Leiden
1957

DE HYPOPHYSIS CEREBRI BIJ LARUS RIDIBUNDUS

J. OORT

STANFORD-LANE MEDICAL LIBRARY

DE HYPOPHYSIS CEREBRI BIJ LARUS RIDIBUNDUS

Digitized by the Internet Archive
in 2025

https://archive.org/details/dehypophysiscere0000joor

DE HYPOPHYSIS CEREBRI BIJ LARUS RIDIBUNDUS

PROEFSCHRIFT

TER VERKRIJGING VAN DE GRAAD
VAN DOCTOR IN DE GENEESKUNDE
AAN DE RIJKSUNIVERSITEIT TE
LEIDEN, OP GEZAG VAN DE RECTOR
MAGNIFICUS DR S. E. DE JONGH,
HOOGLERAAR IN DE FACULTEIT
DER GENEESKUNDE, TEGEN DE BE-
DENKINGEN VAN DE FACULTEIT
DER GENEESKUNDE, TE VERDEDI-
GEN OP WOENSDAG 9 OKTOBER 1957
TE 15 UUR

DOOR

JAN OORT
GEBOREN TE 'S-GRAVENHAGE
IN 1928

TE ASSEN BIJ
VAN GORCUM & COMP. N.V. - G. A. HAK & DR. H. J. PRAKKE

PROMOTOR PROF. DR P. J. GAILLARD.

Aan mijn vrouw

INHOUD

INLEIDING 1

HOOFDSTUK I

DE EMBRYOLOGIE DER HYPOPHYSIS CEREBRI BIJ LARUS RIDIBUNDUS 4

Eigen onderzoek 4

Discussie en conclusies 14

HOOFDSTUK II

DE CELSOORTEN DER HYPOPHYSE 23

HOOFDSTUK III

DE ONDERLINGE BETREKKINGEN TUSSEN DE CELSOORTEN; CYCLISCHE VERANDERINGEN IN DE HYPOPHYSE 31

HOOFDSTUK IV

HET VERBAND TUSSEN CELSOORTEN EN HORMOONPRODUCTIE 38

HOOFDSTUK V

DE VOLWASSEN HYPOPHYSE BIJ LARUS RIDIBUNDUS 47

SLOTBESCHOUWING 62

SAMENVATTING 66

LITERATUUR 68

INLEIDING

Het schrijven van een proefschrift over het hersenaanhangsel bij de kokmeeuw, lijkt misschien meer op zijn plaats in de natuur-philosophische dan in de medische faculteit.

De vergelijkende histologie kan echter bijdragen tot een beter begrip over de functie van de hypophyse, die in het endocrinon en in de endocrinologie een zo centrale plaats inneemt.

O.a. door de therapeutische successen van het A.C.T.H., en de experimentele onderzoekingen over „stress", dreigde het morphologisch onderzoek der hypophyse op de achtergrond te geraken. Gedurende de laatste jaren zijn ook op morphologisch terrein echter belangrijke vorderingen gemaakt, vnl. dank zij de ontwikkeling van een aantal nieuwe, specifieke en meer histochemische kleurmethoden. Het bleek bijv. mogelijk met een bepaalde techniek gonadotrope stoffen aan te tonen. Ook werd er een beter inzicht in de localisatie van de productie van het thyreotrope hormoon verkregen, en er werden onderzoekingen over de localisatie van het adrenocorticotrope hormoon verricht. In de literatuur zijn de meningen hieromtrent echter verre van gelijkluidend.

O.i. zal de bestudering van hypophysen, bij species met een duidelijk cyclisch functionerend endocrinon nauwkeuriger inlichtingen kunnen geven over de mogelijke correlaties, die er tussen het histologisch beeld van de hypophyse en de veranderingen in andere endocriene klieren bestaan. Een dergelijke morphologische studie kan bovendien vragen opwerpen, die aanleiding kunnen geven tot verder experimenteel werk.

Bij bestudering van de betreffende literatuur bleek nu dat de vogelhypophyse èn embryologisch èn histologisch betrekkelijk zelden onderzocht is (zie blz. 14), terwijl de opvattingen over bepaalde punten niet eensluidend zijn. De cyclische veranderingen in de hypophyse bij vogels zijn slechts bij de duif uitgebreid bestudeerd.

De bedoeling van dit proefschrift is, een bijdrage te leveren tot de

vergelijkende embryologie en histologie der vogelhypophyse, dit laatste speciaal in samenhang met de andere interne klieren. Onze keus is gevallen op de kokmeeuw, omdat deze een duidelijk cyclisch verenkleed heeft, het midden houdt tussen trek- en standvogel en betreffende het overige endocrinon reeds de belangstelling van andere onderzoekers heeft gehad.

Voor de bestudering van de embryologie gebruikten wij in het Laboratorium voor Experimentele Histologie te Leiden bebroede kokmeeuweieren en op het nest gevangen jongen.

De kokmeeuw is pas in het tweede voorjaar na het uitkomen van het ei volwassen. In het 1e jaar draagt het individu de juveniele vedertooi (Van Oordt en Junge (1933)).

Bij het onderzoek naar de cyclische veranderingen werden uitsluitend hypophysen van volwassen individuen gebruikt.

Dr. J. J. P. Zaaijer en mevrouw E. K. Bakker-Sauër hebben in 1949 en 1950 het materiaal voor dit onderzoek der volwassen hypophyse maandelijks op Texel verzameld, in samenwerking met de Plantenziektekundige Dienst.

Het is hier de plaats hen en de heren van de Plantenziektekundige Dienst voor hun medewerking te danken. Opmerking verdient dat veel meer dan het voor dit onderzoek gebruikte materiaal bijeengebracht werd. Daar de fixatieduur echter zeer uiteenliep en omdat het voor een goede vergelijking noodzakelijk is de fixatietijden zoveel mogelijk constant te houden, bleek slechts een deel van het verzamelde materiaal voor ons onderzoek in aanmerking te komen.

De indeling in verschillende phasen der cyclus is bij geheel in het laboratorium geobserveerde individuen, zoals dit door Koch (1942) en Schooley en Riddle (1936) bij de duif geschiedde, relatief eenvoudig. Bij in de natuur verzameld materiaal is dit moeilijker. Speciaal tijdens het broeden en het voederen van de jongen, zijn de phasen moeilijk af te grenzen en treedt een „overlapping" op.

In de eerste periode der cyclus ontwikkelen de gonaden zich tot rijpheid. Deze periode wordt bij de vrouwelijke individuen afgesloten door de ovulatie, waarmee de broedperiode begint. Deze valt in begin mei. Gedurende de laatste weken van mei en de eerste weken van juni worden jongen op de nesten aangetroffen. Daarna komt een overgangsphase tot augustus. Dan zijn de vogels in gedeeltelijke rui; de gehele ruiperiode strekt zich uit van augustus tot september, waarna de individuen in een intervalphase verkeren.

De phasen, welke wij in dit proefschrift zullen aanhouden zijn:

phase I: Februari tot half mei: Rijping van follikels en ovulatie. Groei testikels.

phase II: Half mei tot juli: Broedtijd.

phase III: Juli: Overgangsperiode.

phase IV: Augustus en september: Rui.

phase V: Oktober tot februari: Interval.

Deze indeling heeft, wat betreft de grenzen, geen absolute waarde en heeft ook geen strikt biologische betekenis. Zij is slechts gekozen om ons bij de bewerking van de preparaten van nut te zijn.

Tenslotte zij opgemerkt dat dit proefschrift uit twee delen zal bestaan. In het eerste hoofdstuk zal de embryologie der hypophyse worden besproken; de overige hoofdstukken zullen gewijd zijn aan de cytologie der hypophyse.

HOOFDSTUK I

DE EMBRYOLOGIE DER HYPOPHYSE

EIGEN ONDERZOEK

MATERIAAL EN METHODE

Voor de bestudering van de ontwikkeling der hypophyse beschikten wij over 24 kokmeeuwembryonen, van 24 uur bebroedingstijd, tot enkele dagen na het uitkomen oud en verder over een tiental in de natuur uitgebroede nestjongen, waarvan de leeftijd niet precies bekend was.

De hypophysen werden in serie gesneden op 8μ dikte. Van elke leeftijd werd één embryo in saggitale, het andere in frontale richting gesneden. De jonge embryonen werden in toto verwerkt, van de oudere werd alleen de kop gebruikt. Als fixatiemiddel gebruikten we de vloeistof volgens Bouin-Hollande; bij de oudere embryonen werd ontkalking in 5% salpeterzuur toegepast.

De coupes werden om de andere gekleurd, volgens de Azanmethode, zoals aangegeven door Cowdry (1948), blz. 117 en volgens de Duazormethode (Ruyter 1943).

Van alle saggitaal gesneden hypophysen werden grafische reconstructies gemaakt [1]; van een deel van de saggitale en frontale coupes werden glasplaatreconstructies gemaakt [2] (hypophysen van embryonen van 3, 5, 7, 8½, 13 dagen oud).

Bij de beschrijvingen zijn telkens de resultaten van de bestudering van de reconstructies en van de directe bestudering van de saggitaal en frontaal gesneden coupes van embryonen van elk der onderzochte leeftijden samengevat. Indien beide embryonen niet overeen-

[1] Hiertoe worden de contouren van hypophyse en andere aangesneden structuren met behulp van het tekenprisma omtrokken. In een getekende coupe worden de begrenzingen en de voor het onderzoek noodzakelijke details, van alle structuren, geprojecteerd op een rechte, die de snijlijn van het mediane vlak met de coupe weergeeft. De begrenzingen van deze projecties worden door punten op de rechte aangegeven. De zo verkregen rechten worden met de daarop aanwezige punten op grafiekpapier onder elkaar afgezet met inachtneming van de coupedikte. De bloedvaten worden als richtinggeleiders gebruikt. Op deze wijze wordt een projectie der structuren in het mediane vlak verkregen.

kwamen op een bepaald punt, wordt dit in de beschrijving vermeld.

Teneinde de topographische veranderingen, die gedurende de ontwikkeling der hypophyse tussen de hypophysedelen onderling en tussen de hypophysedelen en het chiasma, plaatsvinden, te kunnen bestuderen, werden in de grafische reconstructies de hoeken, die deze structuren met elkaar maken, bepaald. Voor de aanleg van pars anterior, pars tuberalis en pars posterior werd steeds de lengte-as van deze vormsels als richting gekozen. De hoeken in deze mediane reconstructies komen wat betreft de hoeken tussen chiasma, pars anterior, en pars posterior onderling, overeen met de werkelijke hoeken in het mediane vlak. De hoek tussen pars tuberalis en pars anterior is de projectie van de werkelijke hoek tussen deze structuren in het mediane vlak.

BESPREKING VAN HET EIGEN MATERIAAL

Bij *een embryo van 2$^1/_2$ dag* vinden we in het kopgebied het zenuwweefsel en het ectoderm over een aanzienlijke afstand slechts gescheiden door een, met de Duazor- en Azankleuring blauw kleurende membraan. Dit uit twee kiembladen bestaande gebied, noemt men neuro-ectodermplaat.

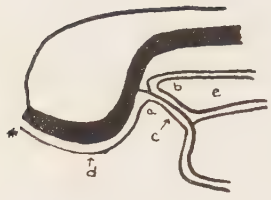
Bij het andere embryo van dezelfde leeftijd, vertoont het ectodermepitheel op één plaats, n.l. voor de membrana buccopharyngica, een verdikking, waarvan het de vraag is, of deze verandering de aanleg van de hypophyse vormt. In plaat I, fig. 1 worden de verhoudingen in het kopgebied schematisch weergegeven.

Bij *een embryo van 3 dagen* vertoont de neuro-ectodermplaat vlak voor de membrana buccopharyngica een „uitstulping" van de primitieve mondholte. (plaat I, fig. 3, mediane reconstructie). Dit is de aanleg van de hypophyse, welke in de literatuur, zakje van Rathke wordt genoemd. Direct caudaal van deze „uitstulping" bevindt zich mesenchym tussen neuro- en ectoderm. In fig. 2

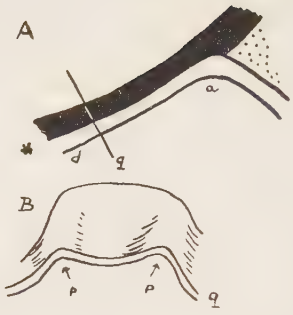
---

[2] De met behulp van het tekenprisma getekende coupes worden met inkt op gegelatineerde glasplaten afgebeeld. De omtrek van coupe 1 wordt op glasplaat 1 gestippeld weergegeven. Daarna wordt glasplaat 1 in de juiste stand op de projectie van coupe 2 geplaatst. Op glasplaat 2 wordt het oppervlakteverschil tussen coupe 1 en 2 volgestippeld. Hierbij wordt de dichtheid der stippels aangepast aan de helling van het afgebeelde vlak. Daarna wordt het verschil tussen coupe 2 en 3 afgebeeld op glasplaat 3, enz.

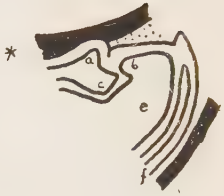
Deze methode heeft – behalve de tijdsbesparing, die ermede wordt verkregen – op de andere reconstructiemethoden het voordeel van grotere precissie voor kleine structuren.

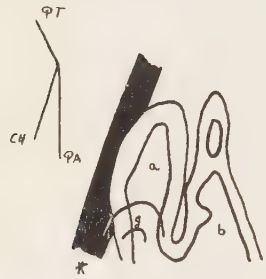

b
e
a
c
d

1

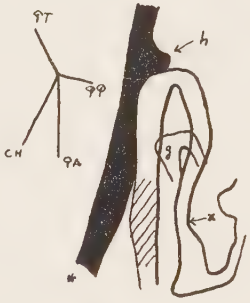

A
a
d
q
B
p
p
q

2


a
b
c
e
f


♀T
CH
♀A
a
g
b

4

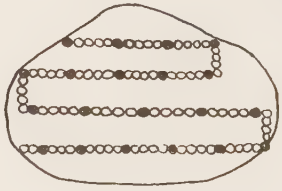

♀T
h
♀♀
CH
♀A
g
x

5

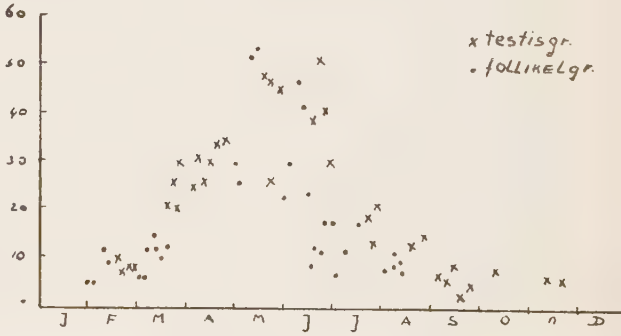
♀T
CH
♀♀
♀A

♀T
CH
♀♀
♀A

7



8


x testisgr.
• follikelgr.
60
50
40
30
20
10
•
J
F
M
A
M
J
J
A
S
O
N
D

PLAAT I

1. Schematische weergave van de verhoudingen in het kopgebied bij jonge embryonen in het algemeen.
   a. plaats van de aanleg van het zakje van Rathke.
   b. aanleg van het zakje van Seessel.
   c. membrana buccopharyngica.
   d. neuro-ectodermplaat.
   e. kopdarm.
   zenuwweefsel zwart.

2. Zakje van Rathke bij een embryo van 72 uur (schematisch naar een coupe).
   A. mediane doorsnede (de plaats van * is rostraal).
   B. zakje van Rathke van rostraal gezien en bij q doorgesneden.

3. Embryo van 3 dagen (mediane grafische reconstructie).
   f. chorda (voor overige letters zie 1).

4. Embryo van 5 dagen (mediane grafische reconstructie).
   g. pars tuberalis.

5. Embryo van 6 dagen (mediane grafische reconstructie).
   h. pars posterior

6. Embryo van 7 dagen („ „ „).

7. Embryo van 13 dagen („ „ „).

8. Embryo van 15 dagen („ „ „).

   De lijnfiguren geven de richtingen der hypophysedelen en het chiasma onderling aan.

   (P.T. = pars tuberalis.
   P.A. = pars anterior.
   P.P. = pars posterior.
   Ch. = chiasma).

9. Schema van de tellingen volgens Rasmussen. Deze figuur geeft een frontale coupe door de hypophyse weer, en de wijze waarop de coupe onder het microscoop verschoven wordt. De cirkels geven gezichtsvelden aan, de zwart gemaakte cirkels de gezichtsvelden waarin de differentierende tellingen verricht werden.

10. Doorsnede der grootste follikel en testisgrootte per maand afgezet.
    ● follikelgrootte (5 eenheden = 1 mm doorsnede; de waarden in mei hebben betrekking op volontwikkelde eieren).
    × testisgrootte (product van lengte en grootste afmeting loodrecht daarop in mm; 1 eenheid = 2).

(plaat I) worden de bij dit embryo heersende verhoudingen schematisch weergegeven. In fig. 2A wordt een mediane coupe afgebeeld; in fig. 2B het zakje van Rathke van rostraal bezien. Uit plaat I, fig. 3 blijkt, dat het hersenweefsel ter plaatse van de „uitstulping" dunner is dan in de omgeving. De „uitstulping" (zie fig 2B) is vrij breed en wel ongeveer 1/3 van de totale breedte van het embryo op deze plaats. De wanddikte verschilt niet merkbaar van het ectoderm in de omgeving. Ook hier bestaat een duidelijke „Azanblauwe" membraan tussen neuro- en ectodermweefsel. Het zenuwweefsel is door zijn buisvorm in dwarse richting gebogen, evenals het ectoderm ter plaatse van de neuro-ectodermplaat. Lateraal, waar de neuro-ectodermplaat eindigt, en bindweefsel tussen neuro- en ectoderm aanwezig is, bevinden zich twee groeven in de bovenwand van het zakje van Rathke. (plaat I, fig. 2*p*) Rostraal zijn deze groeven het diepst. (plaat I, fig. 2*q*).

Bij *een embryo van 4 dagen* is de membrana buccopharyngica verdwenen. Achter het zakje van Rathke bevindt zich een tweede „uitstulping", die gevormd wordt door het voorste deel van de kopdarm en die in de literatuur „zakje van Seessel" wordt genoemd. (Plaat I, fig. 1, *b*).

Bij het transversaal gesneden individu zien we lateraal van het zakje van Rathke twee lobjes. Deze bevatten centraal een lumen, dat samenhangt met het lumen van het zakje van Rathke. De lobjes staan met hun ene uiteinde in nauw contact met het hersenweefsel, en grijpen met hun andere einde laag (d.w.z. rostraal) in het zakje van Rathke aan. Deze structuren zullen voorlopig als partes tuberales worden aangeduid.

Bij *een embryo van 5 dagen* (Plaat I, fig. 4) is het epitheel van het zakje van Rathke over een aanzienlijke afstand nog in zeer nauwe relatie met het hersenweefsel. Toch bevinden zich plaatselijk nu ook enkele bindweefselcellen tussen neuro- en ectoderm. De aanleg van de partes tuberales zijn hier duidelijk te herkennen. (Plaat I, fig. 4, *g*). Hij wordt gevormd door twee rolronde vormsels, die laag aan het zakje van Rathke aangrijpen, en een lumen bevatten in continuiteit met dat van het zakje van Rathke. De aanleg van hypophyse en zenuwweefsel zijn elk omgeven door een Duazor- en Azanblauwe membraan, die op de contactplaats verdikt is. Ook hier is de neurale buis duidelijk dunner op de plaats van contact met het zakje van Rathke. Het zakje van Seessel is slechts weinig kleiner dan het zakje van Rathke. Het bovenste deel bevat

geen lumen, en is opgebouwd uit celstrengen. Bij een ander embryo van dezelfde leeftijd was het lumen van het zakje van Seessel gedeeltelijk geoblitereerd en bevatte daarboven nog een rest van het oorspronkelijke lumen. (zie plaat I, fig. 4). Het zakje van Rathke en dat van Seessel hebben een gemeenschappelijke uitmonding (het z.g. vestibulum) in de mondholte. De hoek tussen chiasma opticum en de richting van de aanleg van de hypophyse is hier 15°; de hoek tussen de aanleg van de pars tuberalis en de pars anterior 135°.

Een pars posterior is bij dit stadium nog niet aanwezig. Het blijkt wel, dat in het gebied waar deze structuur zich zal gaan ontwikkelen (dus direct caudaal van het zakje van Rathke) de neuraalbuis geen celvrije laag aan de peripherie vertoont. Bij bestudering van de coupes maakt het de indruk of daar ter plaatse een grotere celdichtheid dan elders in de neurale buis bestaat. We hebben daarom bij het saggitaal gesneden embryo van deze leeftijd, en bij het saggitaal gesneden embryo van 6 dagen, dat reeds een pars posterior vertoont, in drie opéénvolgende coupes in het ,,pars posterior gebied", en rostraal en caudaal daarvan met de olieimmersie en rasteroculair de kernen geteld. De gemiddelden van deze drie tellingen, in gelijk grote velden verricht, werden als maat voor de celdichtheid aangenomen (zie tabel I). Deze tellingen dienen om een indruk van de

TABEL I

	Coupe	Pars Posterior	Rostraal	Caudaal
Embryo 5 dgn	I	68	48	56
	II	76	55	43
	III	79	49	52
	gemiddeld	74	51	50
Embryo 6 dgn	I	60	49	57
	II	68	64	63
	III	45	60	65
	gemiddeld	58	58	62

celdichtheid in deze gebieden enigszins te objectiveren. Uit deze tabel blijkt, dat bij het embryo van vijf dagen inderdaad een grotere celdichtheid aanwezig is in het gebied, waaruit korte tijd later de pars posterior zal ontstaan. De ,,celdichtheid" in het gebied waar

de pars posterior ontstaat bedraagt 74, daarbuiten rostraal 51, caudaal 50.

Bij *een embryo van 6 dagen* (Plaat I, fig. 5) is het zakje van Rathke verder in grootte toegenomen. Het heeft zich aan de onderzijde over ongeveer 1/3 deel van zijn lengte van het hersenweefsel losgemaakt, waardoor de hoek chiasma-pars anterior ongeveer 40 ° is geworden. Het lumen van het zakje van Rathke is geworden tot een transversaal staande spleet, die zich naar onderen toe vernauwt. In de onderste helft van de voorwand van het zakje van Rathke wordt het oorspronkelijk continue meerlagig epitheelweefsel door bindweefsel in langwerpige, evenwijdig aan de lengteas lopende, strengen verdeeld, die rondom het lumen samenhangen. (Gearceerde gebied in fig. 5, plaat I). Daar, waar het bindweefsel zich tussen de epitheelcellen bevindt, plaatsen de kernen zich enigszins aan de bindweefselzijde. De partes tuberales bevinden zich daar, waar hersenweefsel en hypophyseepitheel gaan wijken. De hoek met de aanleg van de pars anterior is constant gebleven. De partes tuberales bevatten een lumen, dat nog in contact staat met dat van het zakje van Rathke. Bij het ene embryo van deze leeftijd is het contact tussen partes tuberales en hersenweefsel enigszins verloren gegaan, dit embryo is in de mediane reconstructie (Plaat I, fig. 5) afgebeeld, bij het andere is het aanwezig. Het valt op, dat de partes tuberales in het midden van het zakje van Rathke aangrijpen. Het lijkt alsof onderaan het zakje van Rathke iets is toegevoegd. Bovendien vertoont het zakje daar ter plaatse een insnoering (plaat I, 5), waardoor zich een bovenste en onderste afdeling laten onderscheiden.

Het zakje van Seessel is klein t.o.v. het zakje van Rathke, en ook absoluut in afmeting afgenomen. Het lijkt celarmer dan het overige monddakepitheel.

Tussen het zakje van Rathke en de derde ventrikelbodem bevindt zich nog steeds de ,,Azanblauwe'' membraan. Aan het caudale eind der neuro-ectodermplaat heeft zich een verdikking van neuraal weefsel gevormd (Plaat I, fig. 5, *h*). Dit is de aanleg van de pars posterior. De celdichtheid (zie tabel I), die op de 5e dag verhoogd leek, is nu ongeveer gelijk aan die in de omgeving. De hoek tussen de aanleg van de pars posterior en de pars anterior bedraagt 80 °. De hoek tussen chiasma en pars anterior bedraagt 40 °, die tussen pars anterior en ,,pars tuberalis'' is constant gebleven.

Bij *een embryo van 7 dagen* (Plaat I, fig. 6) is een deel van de mond-

holte opgenomen in de gemeenschappelijke uitmonding van het zakje van Rathke en dat van Seessel. Hierdoor is het vestibulum aanzienlijk vergroot.

Bij dit embryo is een indeling in verschillende delen van de aanleg van de hypophyse waar te nemen. Reeds bij een embryo van 6 dagen viel een verdeling in een onderste en een bovenste deel op. De voorwand van dit onderste deel is bij de embryonen van deze leeftijd iets dikker dan in het bovenste deel. Bij de embryonen van 7 dagen is deze verdikking sterk uitgesproken, terwijl de achterwand van het onderste deel een aanduiding van een verdikking vertoont.

Naar analogie van de onderzoekingen van Woerdeman (1914) en Lups (1929) (zie blz. 15) kunnen we bij deze embryonen een „zakje van Rathke in engere zin", een „Vorraum" en een „Mittelraum" onderscheiden. Het „Ventralsäckchen" is slechts aangeduid. De partes tuberales komen overeen met de lobuli lateralis. Hierop zal op blz. 15 nader worden ingegaan.

Bij één der embryonen bevindt zich in de aanleg van de hypophyse een betrekkelijk groot lumen, dat niet in verbinding staat met het oorspronkelijke lumen van het zakje van Rathke, doch kennelijk daarvan is afgesplitst. In dit lumen puilt een onregelmatige ophoping van cellen uit. In de „Vorraum" is de verdeling in celstrengen veel duidelijker geworden. Het contact tussen pars anterior en hersenweefsel beperkt zich tot het bovenste 1/3 deel van het zakje van Rathke. Tussen beiden ligt nog steeds de „Azanblauwe" membraan. De partes tuberales bevinden zich bij beide embryonen daar, waar hersenweefsel en pars anterior het contact verliezen; zij liggen met het ene einde nog steeds tegen het hersenweefsel aan. De lumina hangen niet meer samen met dat van het zakje van Rathke.

Bij één embryo is het zakje van Seessel zeer veel kleiner geworden, bij het andere is het practisch verdwenen; slechts een kleine verhevenheid duidt nog de plaats aan.

De aanleg van de pars posterior bevat een lumen. De hoek tussen pars anterior en chiasma bedraagt ongeveer 90 °, die tussen „pars tuberalis" en pars anterior is ongeveer gelijk aan die van voorafgaande embryo's. De hoek van de pars posterior t.o.v. de pars anterior is kleiner geworden en bedraagt 60 °.

Bij *een embryo van 8½ dag* vinden we de beschreven veranderingen verder voortgeschreden. Het onderste deel van de hypophyse is sterk versmald; het lumen heeft zich ontwikkeld tot een nauwe koker. We kunnen nu van *hypophysegang* spreken. Bij de mondholte

bevindt zich nog een verwijding. Het lumen van het zakje van Rathke is uitéengevallen in een aantal niet samenhangende delen. De splitsing in celstrengen is verder voortgeschreden. In deze celstrengen treffen wij op enkele plaatsen kleine holten aan, kleiner dan een celdoorsnede, van binnen bekleed met een Azanblauw laagje. De pars anterior vertoont lateraal duidelijke groeven t.g.v. de er langs lopende bloedvaten. De hoeken tussen de verschillende hypophysedelen zijn vergeleken met de embryonen van 7 dagen niet veel veranderd.

Een embryo van 11 dagen vertoont ongeveer hetzelfde beeld. De uitwendige vorm van de hypophyse is iets veranderd. Het orgaan is minder langwerpig geworden. De partes tuberales, die nog cylindervormig zijn, bevatten nog een klein lumen. Caudaal in de pars anterior bevindt zich nog de rest van het oorspronkelijke lumen van het zakje van Rathke, waarin celophopingen uitpuilen. Ook aan de basis van de hypophysegang bevindt zich een lumen. De indeling in celstrengen is duidelijk door de gehele hypophyse heen. Tussen deze celstrengen bevinden zich thans ook capillairen. De kernen in de celstrengen bevinden zich nu weer centraal in de cellen en niet meer aan de bindweefselzijde, zoals dit bij jongere embryonen het geval is. Bij het frontaal gesneden embryo valt hier op, dat de indeling der celstrengen symmetrisch is. Uit de bestudering van seriecoupes blijken de celstrengen duidelijk samen te hangen. De hypophysegang is dunner dan bij de voorafgaande embryonen. Het bindweefsel langs de hypophysegang vertoont een sterke vezelvorming. Dit wordt ook bij oudere embryonen steeds aangetroffen.

De voorkwab staat nog steeds in nauwe relatie met de achterkwab en een deel der derde ventrikelbodem. De achterkwab, die bij de voorafgaande embryonen vingerhoedvormig was, vertoont nu een grove lobbing. De hoek tussen pars anterior en chiasma opticum is nu ongeveer 130 °, tussen pars anterior en pars posterior 30 °. De hoek tussen ,,pars tuberalis'' en pars anterior is niet veranderd.

Bij *een embryo van 13 dagen* (plaat I, fig. 7) wordt de verbinding van de pars anterior met het monddakepitheel slechts gevormd door een vrij dunne strook cellen. Slechts in het onderste deel bevat deze nog een lumen. De indeling in celstrengen in de pars anterior is hier strikt symmetrisch. Er bestaat een verschil in opbouw in het gebied, dat het dichtst bij het hersenweefsel ligt, en het voorste deel. Het eerste is n.l. belangrijk compacter in bouw dan het laatste. Er bestaat ook hier een duidelijke samenhang der celstrengen. Tussen pars an-

terior en hersenweefsel bevindt zich nu een laagje bindweefsel; beide zijn omgeven door een Azanblauwe membraan, alleen de partes tuberales staan nog in nauwe relatie met het hersenweefsel. Zij hebben zich iets in saggitale richting afgeplat, en bevatten nog een klein lumen. De hoek tussen pars anterior en chiasma is nog groter geworden (145 °), tussen pars anterior en pars posterior kleiner, bedraagt 15°. De hoek tussen pars anterior en ,,pars tuberalis'' is ook hier nog constant gebleven.

De partes tuberales hebben zich bij *een embryo van 15 dagen* verder afgeplat. Zij grijpen aan in het bovenste caudale deel van de pars anterior, en staan over hun gehele oppervlakte in verbinding met hersenweefsel. Een lumen is niet meer aanwezig. Tussen hersenweefsel en pars anterior is nog meer bindweefsel gekomen. De uitwendige vorm van de hypophyse is verder niet veel veranderd. De epitheelstreng, die de hypophysegang vormde, is als zodanig niet meer aanwezig. Een kort aanhangsel aan de hypophyse geeft de plaats aan, waar ze zich bevonden heeft. Hierin bevindt zich een lumen.

In het vroegere beloop bevinden zich enkele epitheelophopingen, waartussen zich een ,,Azanblauw'' materiaal bevindt, terwijl ook hier een versterkte vezelvorming bestaat. De pars posterior is duidelijk gelobd.

Bij *een embryo van 18 dagen*, dat is vlak voor het uitkomen van het ei, bestaan de partes tuberales uit twee dunne platen epitheelweefsel, die enkele cellagen dik zijn. Ze hebben zich naar voren en achteren verder over het hersenweefsel uitgebreid. In de pars anterior bevindt zich nog een rest van het lumen. De pars anterior is duidelijk in tweeën gedeeld; in het deel, dat het meest rostraal ligt, is de richting der celstrengen frontaal; in het deel, dat aan het hersenweefsel grenst meer saggitaal. De pars posterior is gelobd. De hypophysesteel is bij één individu nog niet geheel verdwenen. Tussen de cellen die de rest van de hypophysesteel vormen, vinden we ook hier, in het preparaat, Azanblauwe ophopingen; en in het bindweefsel van de omgeving versterkte vezelvorming.

De postembryonale hypophyse

Bij uit het ei gekomen vogels en de oudere, uit het veld afkomstige individuen, is de hypophysesteel geheel verdwenen. Voorts heeft de hypophyse de volwassen vorm bereikt, ze neemt nog slechts in grootte toe.

De beschrijving van de volwassen hypophyse geschiedt aan de hand van hetzelfde volwassen hypophysemateriaal, dat ook voor het tweede deel van dit onderzoek is gebruikt.

De hypophyse is *bij volwassen vogels* een enigszins schildvormig orgaan, met cranio-dorsaal een brede kant, de punt naar ventraal. De lengte is ongeveer 2.2 mm, de breedte 1.8 mm, de dikte 1.1 mm, met vrij grote individuele verschillen. De partes tuberales zijn slechts enkele cellagen dik en omvatten de gehele hypophysesteel. De pars posterior is duidelijk gelobd. Pars anterior en pars posterior zijn steeds gescheiden door een smalle strook bindweefsel, bij één hypophyse ligt het pars-anteriorweefsel echter over een geringe afstand dicht tegen het zenuwweefsel aan. Een pars intermedia ontbreekt steeds.

Tot slot willen wij enkele opmerkingen maken over de cytologie der hypophyse bij oudere embryonen en bij de jonge individuen (tot 5 weken oud). De cytologie der volwassen hypophyse komt in Hoofdstuk V ter sprake.

By embryonen vanaf 13 dagen worden in enkele cellen in het protoplasma zeer fijne granulaties waargenomen. Deze zijn in de Azanpreparaten roze en in de Duazorpreparaten soms iets paarsig. De granulaties zijn echter zo fijn, en liggen zo verspreid door het weinige protoplasma, dat het zeer de vraag is, of ze zonder meer met de granulaties bij de chromophiele cellen van de volwassenen op één lijn gesteld mogen worden. Bij de oudste embryonen meenden we in het voorste deel der hypophyse enkele acidophiele cellen te kunnen waarnemen. Bij de jonge individuen zagen we echter talrijke acidophiele cellen met zeer fijne granulaties. Zij werden vooral in het voorste deel van de hypophyse waargenomen.

Basophiele cellen werden niet aangetroffen. In de slotbeschouwing (zie blz. 64) zullen wij op deze bevindingen nog nader terugkomen.

DISCUSSIE EN CONCLUSIES

De bovenbeschreven ontwikkeling der hypophyse bij larus ridibundus, blijkt in grote lijnen overeen te komen met die, van andere vogels (Atwell en Sittler 1918, Lups 1929, Rost 1939, Atwell 1939).

De eerste duidelijke aanleg van de hypophyse treedt op bij een embryo van 3 dagen. Dit ligt binnen de – overigens nogal uiteenlopende – waarden, die in de literatuur voor verschillende species wordt opgegeven (Müller 1871, Economo 1904, Tilney 1911,

Atwell en Sittler 1918, Lups 1929, Lillie 1930, Rahn 1938).

Voornamelijk in de oudere literatuur bestaat er verschil van mening over de vraag of de hypophyse geheel ectodermaal is, of dat ook entodermaal weefsel een rol bij de opbouw speelt. Dit hangt ten nauwste samen met een mogelijk aandeel van het entodermale zakje van Seessel bij de ontwikkeling. (Economo 1904, Lups 1929, Friedman 1934, Rost 1939).

Bij de kokmeeuw is de hypophyse zeker geheel opgebouwd uit ectoderm. Het zakje van Seessel neemt n.l. vroeg in de ontwikkeling relatief en absoluut in grootte af, en is na de 7e dag verdwenen. De wijze van verdwijnen van het zakje van Seessel, n.l. met het uiteenvallen in celstrengen en obliteratie van het lumen, (embryo van 5 dagen) is dezelfde als door Lups bij de eend werd beschreven. De plaats, waar het zakje van Seessel was gelegen, kunnen wij bij oudere embryonen in de achterwand van het vestibulum, dat is de latere hypophysegang, localiseren.

In overeenstemming met de opvattingen van Hochstetter (1924) en Gilbert (1934), lijkt ons de eerste aanleg van de hypophyse meer een plooiing van het monddak, dan een epitheelspruiting, waarbij het zakje van Rathke primair in nauwe relatie met het hersenweefsel staat. De wanddikte van het zakje van Rathke is immers niet merkbaar groter dan elders, wat bij een spruiting te verwachten zou zijn.

Door Woerdeman (1914) is in uitvoerige vergelijkend embryologische onderzoekingen aangetoond, dat de ontwikkeling der hypophyse bij alle vertebraten ongeveer volgens eenzelfde grondplan plaats heeft. Het blijkt, dat zich bij het zakje van Rathke, zoals dat zich aanvankelijk ontwikkeld heeft, een secundair van het monddakepitheel afgesnoerd gebied voegt. Dit secundair bijgevoegde deel, zou in de loop der ontwikkeling een uitbochting naar voren en naar achteren vertonen, terwijl ook 2 kleinere uitbochtingen naar lateraal zouden ontstaan. De aanleg van de hypophyse bestaat op een bepaald moment in de ontwikkeling dus uit 5 afdelingen: het oorspronkelijke zakje van Rathke, het secundair bijgevoegde deel, dat „Mittelraum" genoemd wordt, de uitbochting hiervan naar voren, „Vorraum" geheten, naar achteren („Ventralsäckchen") en de twee „uitbochtingen" naar opzij de z.g. lobuli lateralis. Bij verschillende vertebraten zouden deze structuren in wisselende mate aan de ontwikkeling der hypophyse deelnemen.

Lups (1929) heeft de ontwikkeling bij de eend bestudeerd, en vindt,

dat deze met die, welke Woerdeman bij de andere vertebraten vond, goed overeenkomt. Bij embryonen van 4 tot 5 dagen voegt zich een deel van het vestibulum bij het hypophysezakje. Dit bijgevoegde deel is dus de „Mittelraum". Spoedig hierna (embryonen van 6 dagen oud) verdikt de achterwand van het toegevoegde deel zich, bocht uit en wordt tot „Ventralsäckchen"; de voorwand bocht uit en wordt tot „Vorraum", terwijl nu lateraal de lobuli lateralis ontstaan. Deze ontwikkeling vertoont grote overeenkomst met die, welke Woerdeman bij reptielen beschreef. Hierbij is echter de „Vorraum" sterker ontwikkeld, terwijl bij de eend en de kip (Woerdeman) het „Ventralsäckchen" sterk uitgegroeid is. Ook zouden bij de reptielen de lobuli lateralis sterker ontwikkeld zijn en een lumen vertonen.

De verdeling der hypophyse, zoals deze door Woerdeman (1914) gegeven is, wordt bij de kokmeeuw duidelijk gevonden bij een embryo van 6 à 7 dagen, hetgeen overeenkomt met de waarneming van Lups (1929) die dit bij de eend de 6e dag vond. Het „Ventralsäckchen" is echter in tegenstelling tot zijn waarnemingen bij de kip en eend niet sterk uitgesproken. Ook bevatten de partes tuberales een lumen. In dit opzicht komt de ontwikkeling der hypophyse bij de kokmeeuw nog meer met de reptielen overeen dan die bij de kip en de eend.

Het grootste deel van de volwassen hypophyse ontstaat uit de voorwand van het zakje van Rathke, welke in celstrengen verdeeld wordt door de ingroei van bindweefsel. De kernen der hypophysecellen richten zich aanvankelijk naar de bindweefselzijde. Hoewel bij de verdere ontwikkeling de ogenschijnlijke samenhang der celstrengen verloren lijkt te gaan (na 11 dagen), blijkt uit de bestudering van seriecoupes, dat deze voor een groot deel tòch samenhangen.

Het lumen van het zakje van Rathke verdwijnt door ingroei van cellen. Vanaf de 7e dag werden herhaaldelijk in het lumen uitpuilende celmassa's aangetroffen.

Bij de vogelhypophyse komt geen pars intermedia voor (De Beer 1926, Atwell 1939 e.a.). Dit was in de oudere literatuur een veel omstreden punt. Ook bij walvissen ontbreekt de pars intermedia. Bij de vertebraten zonder pars intermedia bevindt zich bindweefsel tussen pars anterior en pars posterior, bij sommige species zelfs kraakbeen (Pokorny 1926).

Gaillard slaagde er in 1937 in bij samenkweken van achter- en

voorkwabweefsel, afkomstig van jonge konijnen, op de contactplaatsen weefsel met pars-intermediastructuur te krijgen. Ook door transplantatie-experimenten is duidelijk geworden, dat de ontwikkeling van een pars intermedia afhangt van de aanwezigheid van hersenweefsel (Hegre 1946). Een intensief contact tussen pars anterior en pars posterior lijkt voor het tot stand komen van een pars-intermediastructuur dus noodzakelijk.

Ook bij larus ridibundus zagen wij geen pars intermedia ontstaan. Reeds bij het begin der ontwikkeling waren pars anterior en pars posterior gescheiden door een Azanblauwe membraan. Vanaf de 13e dag der ontwikkeling ontstaat er bindweefsel tussen pars anterior en hersenweefsel. Dit blijft gedurende de verdere ontwikkeling en gedurende het verdere leven bestaan. Het intiem contact tussen hersenweefsel en pars anterior, dat volgens Gaillard e.a. noodzakelijk lijkt om tot een pars-intermediastructuur te komen, bestaat hier dus niet. De ,,pars tuberalis'' is wel in nauwe relatie met het hersenweefsel, doch blijft er ook gedurende de ontwikkeling door bindweefsel van gescheiden. De structuur van de ,,pars tuberalis'' lijkt bij de volwassen kokmeeuw zeker niet op pars-intermediaweefsel (zie blz. 54).

In de latere stadia wordt het zakje van Rathke tot een langgerekte structuur, waarvan het onderste deel zich afsnoert en tot hypophysegang wordt. Over het mechanisme van deze afsnoering bestaan in de literatuur weinig gegevens. Bij het verdwijnen van deze epitheelstreng, die de hypophyse met het monddak verbindt, speelt het bindweefsel waarschijnlijk een belangrijke rol. We zagen bij embryonen van ongeveer 11 dagen en ouder, rondom de hypophysesteel een versterkte vorming van bindweefselvezels. Daarbij neemt de omvang echter absoluut af, zodat celmateriaal verloren gaat. Het mechanisme daarvan is onbekend. Wel zagen wij bij een tweetal embryonen een Azanblauwe substantie, gelegen tussen de cellen, die misschien als gevolg van degeneratie opgevat dient te worden.

De achterkwab ontstaat gedurende de 5e dag bij de vogelhypophyse (Economo, 1899, Tilney 1911, Atwell en Sittler, 1918). Bij de kokmeeuw zagen we een pars posterior op de 6e dag der ontwikkeling. Bij het ontstaan der pars posterior zou volgens Hochstetter (1924) actieve groei de hoofdzaak zijn.

Kingsbury en Adelman (1924) menen, dat de invloed van de kopbuiging zeer belangrijk is, waardoor een plooiing der neuraalplaat zou optreden. Gilbert (1934) komt na een onderzoek bij

kattenembryonen tot de conclusie, dat de cephalisatie en de daardoor optredende positieveranderingen in het kopgebied, van veel belang zijn voor het ontstaan van de pars posterior. Daarnaast moet aan actieve groei in chiasma en mamillairstreek betekenis worden toegekend, terwijl actieve groei in het gebied van de pars posterior ontkend wordt. Zij werkte echter met gewoon gefixeerde preparaten, zodat het aantal mitosen, dat zij vond géén volstrekte maat is voor het werkelijk aantal mitosen. Onze preparaten waren volgens Bouin-Hollande gefixeerd, zodat mitosentellingen ook niets zouden zeggen. Daarom hebben wij getracht iets te weten te komen uit orienterende bepalingen van de celdichtheid. Het blijkt, dat bij een embryo van 5 dagen op de plaats, waar de pars posterior zal komen, de cellen dichter bij elkaar liggen dan elders. Bij een embryo van 6 dagen zien we dan een pars posterior, die zich niet als een plooi, maar als een verdikking voordoet.

Zeker overheerst dus bij de ontwikkeling der pars posterior bij de kokmeeuw het actieve element, althans in de eerste stadia der ontwikkeling. Vanaf de 11e dag treedt een lobbing in de pars posterior op. Deze is ook bij volwassen vogels aanwezig. Ook bij de kip komt deze gelobde achterkwab voor (Romeis 1940).

De partes tuberales ontwikkelen zich uit de pars anterior. Volgens Woerdeman ontstaan ze voornamelijk uit de lobuli lateralis. Attwell en Sittler zien deze bij de kip reeds vroeg ontstaan, aan de basis van het zakje van Rathke (59 uur). Sommige auteurs nemen zelfs een ontstaan, lateraal van het zakje van Rathke aan, dus uit het monddak epitheel; en ze menen, dat deze bij de verdere ontwikkeling in het zakje van Rathke worden opgenomen. De Beer beschrijft het ontstaan van deze laterale lobjes in samenhang met de praemandibulaire somieten.

Al deze auteurs, evenals de oudere, beschouwen de laterale lobjes, dus de latere partes tuberales, als „uitstulpingen", d.w.z. als actieve uitgroeiingen van het zakje van Rathke. Deze zouden later contact met het hersenweefsel krijgen.

In tegenstelling tot andere auteurs (Rossi 1896, Economo 1899, Tilney 1913, Lups 1929 en Atwell 1939) menen wij, dat de aanleg van de „pars tuberalis" practisch al direct bij het begin der ontwikkeling aanwezig is. Deze wordt nl. gevormd door de groeven, die lateraal in de aanleg van de hypophyse aanwezig zijn, zoals uit de topographische verhoudingen duidelijk wordt (Plaat I, afb. 2A en 2B). Ook willen wij de partes tuberales dus niet als uitsteeksels van

het zakje van Rathke zien, die later contact met het hersenweefsel krijgen, doch als hypophysedelen, die reeds bij het begin der ontwikkeling contact met het hersenweefsel hebben en behouden. Slechts bij één embryo in onze serie was dit contact in beperkte mate verloren gegaan.

Op grond van een verschil in ontwikkelingswijze kunnen we de ontwikkeling der partes tuberales indelen in drie perioden:

De eerste periode loopt van onmiddellijk na het ontstaan der hypophyse tot ongeveer de 6e dag der ontwikkeling. In deze periode overheerst aanvankelijk het passieve moment. In aansluiting hierop groeien de partes tuberales nu verder, doordat het epitheel actief groeit, en het bindweefsel de pars anterior los gaat maken van het hersenweefsel. Begrijpelijk hebben de partes tuberales een lumen, dat samenhangt met dat van het zakje van Rathke.

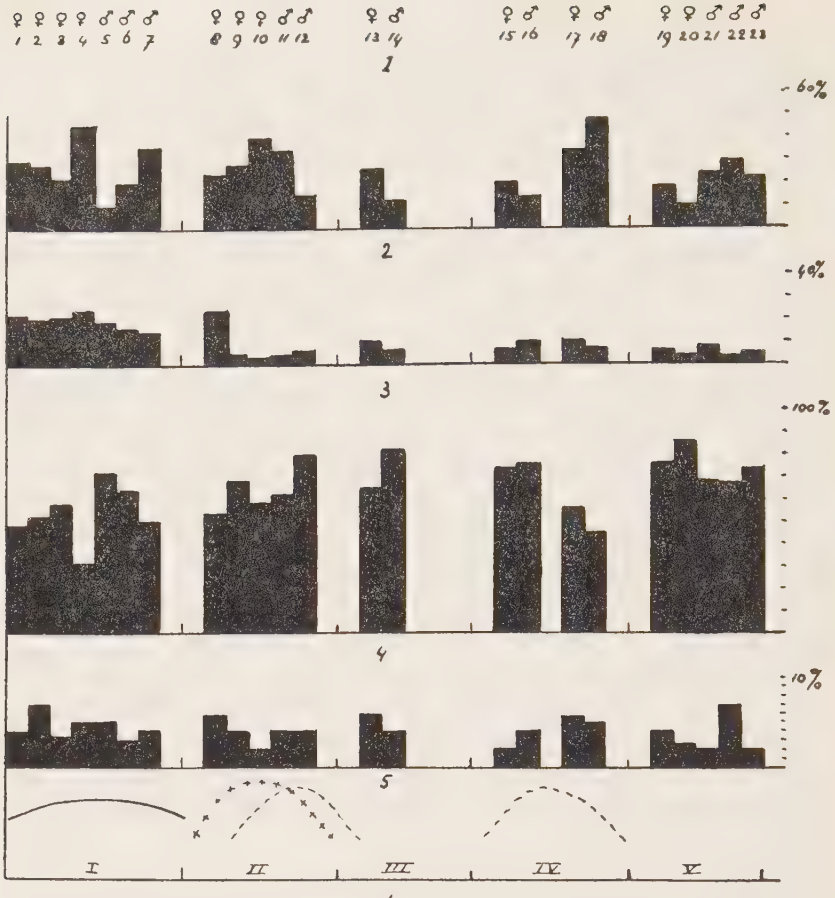
Dit is in tegenstelling met de waarnemingen van Lups bij de eend, die geen lumen in de partes tuberales vond.

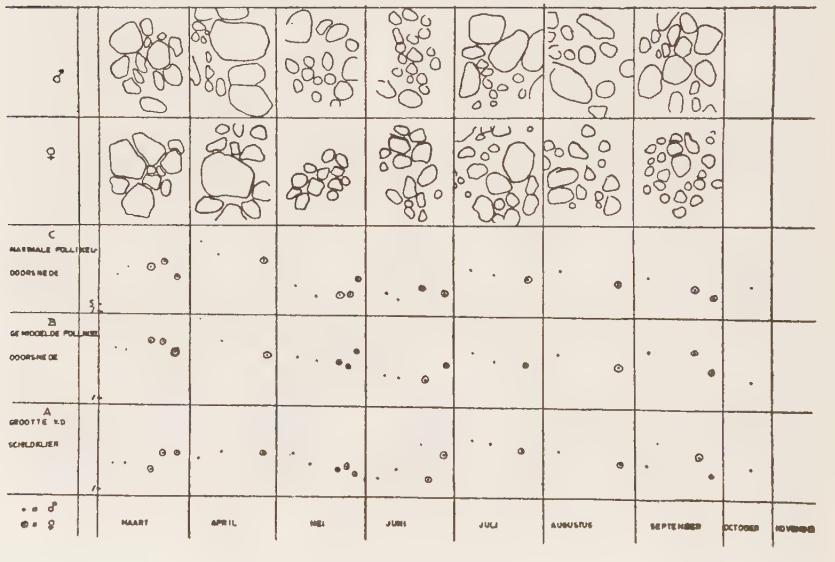
In de tweede periode - omtrent de 6e tot 7e dag der ontwikkeling – gaat het epitheel der pars anterior zich opsplitsen in celstrengen, die aanvankelijk rondom het lumen samenhangen. De partes tuberales worden in hun onderste deel in deze opsplitsing betrokken en doen zich in deze periode voor als een tweetal rolronde strengen aan de laterale zijde van de pars anterior, die zich in niets van de overige strengen onderscheiden. Het lumen verliest in deze periode het contact met dat van de pars anterior.

In de derde periode – na de 13e dag – platten de rolronde strengen zich langs de hypophysesteel af tot een paar cellen dikke laag, terwijl hun lumen verdwijnt.

Tot slot willen wij nog wijzen op de ligging der hypophysedelen onderling gedurende de ontwikkeling. Om deze te kunnen beoordelen, maakten wij gebruik van de grafische reconstructiemethode. De hoeken tussen de onderdelen bij de bespreking van het eigen materiaal vermeld, zijn aan deze reconstructies ontleend.

De hoek tussen de aanleg van de pars anterior en het chiasma wordt gedurende de ontwikkeling steeds groter (embryo van 5 dagen 15 °; embryo van 6 dagen 40 °; embryo van 7 dagen 90 °; embryo van 11 dagen 135 °; embryo van 13 dagen 145 °). De hoek tussen de aanleg van de pars anterior en van de pars posterior daarentegen steeds kleiner (embryo van 6 dagen 80 °; embryo van 7 dagen 60 °, embryo van 11 dagen 30 °; embryo van 13 dagen 15 °). Het is interessant tijdens deze ontwikkeling (eerste en tweede ontwikkelings-


♀ ♀ ♀ ♀ ♂ ♂ ♂
1 2 3 4 5 6 7
♀ ♀ ♀ ♂ ♂
8 9 10 11 12
♀ ♂
13 14
♀ ♂
15 16
♀ ♂
17 18
♀ ♀ ♂ ♂ ♂
19 20 21 22 23
1
60%
2
40%
3
100%
4
10%
5
I
II
III
IV
V
6


♂
♀
C
MAXIMALE FOLLIKEL-
DOORSNEDE
5
B
GEMIDDELDE FOLLIKEL
DOORSNEDE
1
A
GROOTTE V.D.
SCHILDKLIER
1
♂
♀
MAART
APRIL
MEI
JUNI
JULI
AUGUSTUS
SEPTEMBER
OCTOBER
NOVEMBER

PLAAT II

1. Percentages acidophiele cellen van de totaal aantallen per kokmeeuw getelde cellen in het chromophiele gebied. De hypophysen zijn gerangschikt volgens de op blz. 3 aangegeven phasen (zie 5). Het geslacht der individuen en het rangnummer wordt boven elke kolom aangegeven. De grafieken 2 tot 5 geven in boven elkaar liggende kolommen steeds waarden voor één individu weer.

2. Percentages basophiele cellen in het chromophiele gebied.

3. Percentages chromophobe cellen in het chromophiele gebied.

4. Percentages basophiele cellen in het chromophobe gebied, uitgedrukt als percentages van het totaal aantal in dit gebied getelde cellen.

5. Verwachtingen van de „trope" activiteit gedurende de verschillende phasen.

Phase I	februari tot half mei; rijping der follikels en ovulatie, groei der testikels.
Phase II	half mei tot juli: broedtijd.
Phase III	juli: overgangsphase.
Phase IV	augustus september: rui.
Phase V	october tot februari; interval.
————	gonadotropine activiteit.
++++	prolactine activiteit.
----------	thyreotropine activiteit.

6. Schildklier veranderingen tijdens de jaarcyclus (uit de wintermaanden was geen schildklier beschikbaar),

   A. grootte van de schildklier, uitgedrukt in het product van lengte en grootste afmeting loodrecht daarop, gemeten in millimeters, (één eenheid = dit product met de waarde 1).

   B. gemiddelde doorsnede gemeten in de met het tekenprisma getekende follikeldoorsnede; de eenheid heeft geen absolute betekenis, doch dient ter onderlinge vergelijking.

   C. maximale follikelgrootte, gemeten aan de genoemde tekeningen. De schaal is een ander dan die bij grafiek B.

   In de bovenstaande tekeningen wordt in elke maand een representatieve afbeelding van de met behulp van het tekenprisma vervaardigde follikeldoorsneden weergegeven.

phase der partes tuberales) op de partes tuberales te letten. Deze ontstaan aan de basis van het zakje van Rathke. Wanneer het bindweefsel aan de voorzijde hersenweefsel en pars anterior gaat scheiden (dit is eigenlijk niet juist, want in feite groeit alles behalve de contactplaats tussen hersenweefsel en pars anterior) blijven de toppen van de partes tuberales steeds daar, waar pars anterior en hersenweefsel samenhangen. Het is alsof de partes tuberales ernaar streven het contact met het hersenweefsel te behouden. Opvallend is dat de hoeken tussen partes tuberales en pars anterior in de grafische reconstructies (projectie van de ware hoek) hierbij constant blijven.

DE CELSOORTEN DER HYPOPHYSE

De pars anterior der volwassenen hypophyse is opgebouwd uit onderling samenhangende strengen en uit nesten van cytoplasmarijke kliercellen, omsponnen door een netwerk van bloedvaten en enig bindweefsel.

Reeds lang geleden en met betrekkelijk eenvoudige kleurmethoden had men waargenomen, dat voor de kliercellen een indeling in verschillende celtypen mogelijk was.

Volgens Romeis was Flesch in 1884 de eerste, die bij de pars anterior van paard, hond en mens melding maakte van twee celsoorten; grote grofkorrelige cellen, die zich met osmiumzuur, eosine, indigo en vooral met de chroomhaematoxyline kleuring volgens Weigert intensief kleurden, en kleinere, minder duidelijk af te grenzen cellen, die niet met genoemde kleurstoffen „reageerden".

De benamingen, die thans veelal gebruikt worden, stammen van Schönemann (1892), van Benda (1900) en van Thom (1901).

De eerste onderscheidde in met aluin-haematoxyline-eosine gekleurde coupes, naast de practisch niet kleurbare cellen, rood en blauw gekleurde cellen, die hij resp. eosinophiele en cyanophiele cellen noemde. Benda gebruikt de benamingen chromophobe en chromophiele cellen resp. voor de niet en de wel kleurbare cellen.

Thom voert de benaming basophiele cellen voor de eerder genoemde cyanophiele cellen in.

Gemelli (1907) onderscheidt binnen de groep der chromophielen *drie* verschillende typen: acidophielen, cyanophielen en overgangscellen. Door verschillende andere auteurs worden eveneens overgangsvormen tussen de verschillende celtypen gemeld. Ook worden andere namen genoemd, voor celsoorten, die met andere kleurmethoden gevonden zijn.

Romeis (1940) geeft een overzicht over de verschillende tegenstrijdige opvattingen in de literatuur van vóór 1940 en neemt op grond van uitgebreide bestudering van menselijke hypophysen met een speciale gewijzigde Heidenhainse Azanmethode (Kresazankleuring) het bestaan van 5 celsoorten aan, alpha-, bêta-, gamma-, delta- en epsilon- cellen. Zijn alpha- en bêta- cellen komen overeen

met de acidophielen (eosinophielen) resp. basophielen (cyanophielen) van andere auteurs.

De benamingen, die Romeis gebruikt, werden het eerst voorgesteld door Bailey en Davidoff. (1925). Deze symbolen lijken logischer dan de eerder genoemde termen, daar de kleurstoffen, waarmee de verschillende cellen geïdentificeerd worden, practisch allemaal zuur zijn en er derhalve geen werkelijk zure of basische eigenschappen van de cellen mee worden onderscheiden. (Romeis (1940), Herlant (1942) Greep (1954).

De chromophoben worden door Romeis opgevat als een zelfstandig celtype (zie blz. 33). Hij deelt niet de opvatting van andere auteurs, dat zij ongedifferentieerde voorstadia zijn van gekorrelde cellen, of dat zijn eindstadia daarvan vormen. De rijpe chromophoben zijn volgens hem volontwikkelde cellen met specifieke functie, zoals ook de alpha- en bêta-cellen dat zijn. Hij wil voor de chromophoben de benaming gamma-cellen gebruiken en deze gedifferentieerde vorm van de ongedifferentieerden en eventueel gedédifferentieerden onderscheiden. De ongedifferentieerde kliercellen of stamcellen zijn naar zijn mening direct af te leiden van de embryonale cellen en worden als reservemateriaal ter vervanging van ten gronde gegane gedifferentieerde cellen opgevat. De gedédifferentieerde cellen worden als hypochromatische, ontkorrelde, chromophielen beschouwd. Verder onderscheidt hij dan nog een zich met Kresazan lichtblauw (aniline-blauw) kleurende delta-cel en een zich in het Kresazan preparaat okergeel (oranje G) kleurend celtype, de epsilon-cel.

Ook in meer recente publicaties worden dergelijke nieuwe celtypen naar aanleiding van resultaten, verkregen met andere kleurmethoden bij verschillende species beschreven.

Zo beschrijft Friedgood (1940), dat met de Heidenhainse Azanmethode, zoals die gewijzigd werd door Dawson twee soorten acidophielen bij de kat te zien zijn, n.l. cellen die zich met oranje G kleuren, die hij gewone acidophielen noemt en verder cellen die zich met azokarmijn kleuren, die hij carminophielen noemt. Deze zouden respectievelijk overéénkomen met de epsilon- en alpha-cellen van Romeis. Hartmann, Fain en Wolve (1946) vonden bij honden een met erythrosine specifiek kleurende cel, die zij identiek beschouwen met de carminophiele cellen (alpha-cel). Deze carminophielen zouden echter niet bij alle species voorkomen; zo zouden ze volgens Halmi (1950) bij de rat ontbreken.

De indeling der basophielen, zoals Romeis die met zijn Kresazan kleuring gevonden had, bleek andere auteurs (Brolin 1946,

Goldberg en Chaikoff 1950) géén bevredigende resultaten op te leveren.

Gomori gelukte het in 1950 met een gemodificeerde Azantechniek in combinatie met zijn aldehydfuchsine-methode duidelijk twee soorten basophielen (β en δ) aan te tonen. Ook door Halmi (1950, 1952) wordt aan deze methode bij de rat en muis grote waarde toegekend. De korrels der bêta-cellen kleuren zich violet tot violetblauw met de aldehydfuchsine-methode, de korrels der delta-cellen groen tot groen-blauw met het door hem gebruikte „light Green". Romeis, die behalve menselijk materiaal, ook vergelijkend histologisch veel materiaal heeft bestudeerd, vermeldt duidelijke verschillen van voorkomen en aspect bij verschillende species, zowel uit eigen onderzoek als uit de literatuur.

De alpha-cel van Romeis vertoont in zijn protoplasma in het Azanpreparaat met karmijn rood kleurende korrels. Zij zijn bij alle diersoorten, die er op onderzocht zijn, aangetoond; echter in verschillende hoeveelheid, en niet altijd even gemakkelijk. Duidelijk, en frequent zijn ze bij mens, apen, één-hoevigen, vleeseters, herkauwers en knaagdieren. Bij vele vogelsoorten en reptielen zou het aantonen minder gemakkelijk en de frequentie geringer zijn. Ook de gemiddelde grootte der eosinophielen zou bij verschillende species wisselen; bij de mens en huiszoogdieren vindt men relatief grote eosinophielen vergeleken met muis, rat, cavia, en duif. Bij de species met kleinere eosinophielen is ook de grootte der granula gering, zodat zij bij oppervlakkige beschouwing de indruk van een diffuse protoplasmakleuring kunnen geven. Behalve dit wisselend aspect der eosinophielen bij één species, wisselt ook het aspect bij één individu en men onderscheidt de eosinophielen dan weer naar grootte en min of meer sterke kleurbaarheid.

Onder bêta-cel verstaat Romeis de cellen, waarvan de korrels zich met cresofuchsine of resorcine-fuchsine kleuren. Hij wijst erop, dat met de Azankleuring blauw kleurende cellen niet alle tot de bêta-cellen gerekend moeten worden, want dat ook de delta-cellen zich blauw kleuren. Ook de bêta-cellen zijn niet bij alle species in gelijke hoeveelheid aanwezig, bij de cavia b.v. zijn ze weinig frequent.

De grootte der korrels is ook bij de bêta-cel wisselend. Zéér fijn zijn ze b.v. bij de kat. Doch zelfs over de aanwezigheid van bêtacellen bij dezelfde diersoort met dezelfde kleurmethode, heerst geen éénstemmigheid. Bij de stier en os b.v. vond Van Soos (1934) de granula der basophielen met resorcine-fuchsine niet gekleurd.

Romeis daarentegen wel. Rodriguez (1937) vond bij cavia en rat geen met cresofuchsine kleurbare cellen, terwijl Romeis ze ook hier vermeldt. Ook bij de bêta-cellen worden, op grond van min of meer intensieve kleuring en verschil in grootte, onderverdelingen beschreven.

De gamma-cellen van Romeis werden door hem beschreven als cellen met in Azanpreparaten goed zichtbare celgrenzen, zonder duidelijke rode, donkerviolette of blauwe granula, met een bleek of grijs-violet, fijn korrelig protoplasma. Zoals boven reeds is besproken, is zijn „gamma-cellen-begrip" minder omvattend dan het „chromophoben-begrip" van andere auteurs.

Bij de tot dusverre vermelde publicaties zagen we dus nog al uiteenlopende resultaten van de onderzoekingen. Mogelijk zou dit te verklaren zijn door het gebruik van verschillende kleurtechnieken en/of verschillende diersoorten. Opvallend is echter dat verschillende auteurs ook bij gebruik van „dezelfde" kleurstof verschillende resultaten bereiken.

Berblinger en Burgdorff (1935) geven b.v. aan, dat cresofuchsine electief de granula der basophiele cellen kleurt, en wel donkerrood tot blauw. Volgens Romeis (1940) echter is de kleur blauw-violet tot bruin en volgens Benoit (1932) bruin tot zwart-bruin. De werking van de kleurstof resorcinefuchsine wordt in het algemeen dezelfde geacht als die van cresofuchsine. Van Soos (1934) echter vindt, dat het de basophiele granula donkerblauw en het protoplasma der basophielen staalblauw kleurt.

Of deze uiteenlopende resultaten te wijten zijn aan verschillende fixatiemethoden dan wel aan een verschillende bereiding van de kleurstofmengsels, blijkt uit de publicaties niet.

Bij de vogelhypophyse bieden de onderzoekingen een niet minder verward beeld; men meende aanvankelijk zelfs, dat sommige species in het geheel geen chromophielen bevatten. Het aantonen der verschillende celsoorten vereist bij de vogelhypophysen een zeer zorgvuldige kleurtechniek (Romeis). Zelfs Stendell meende in 1913 nog, dat de hypophyse bij vogels een slecht ontwikkeld orgaan met geringe functie is.

Latere onderzoekingen bij de kip (Fichera (1915), Romeis (1940) Wilson (1949, 1952), Payne (1943-1949)), bij de duif (Schooley en Riddle (1938), Koch (1942) en merel (Schildmacher, 1937) toonden echter aan, dat er duidelijk chromophielen aanwezig waren. Ook hier zijn de meningen der verschillende auteurs echter niet geheel gelijkluidend. Terwijl Schooley en Riddle (1938) bij de

duif slechts acidophielen, basophielen en chromophoben in verschillende stadia van activiteit onderscheiden, neemt Koch (1942) 6 celtypen aan en wel embryonale of primaire cellen, chromophoben, acidophielen, basophielen, ambophielen en „Kleinzellen".

Schooley en Riddle, die met duivenhypophysen werkten, behandelen ieder preparaat gedurende nauwkeurig dezelfde kleurtijden en met nauwkeurig dezelfde methoden, om verschillen door over- en onderkleuring te vermijden. Zij bekeken de coupes pas voor het eerst na insluiting, en gebruikten bij de kleuring een zuurfuchsine-methylgroen mengsel volgens Severinghaus. Zij differentieerden de verschillende celsoorten naar de kleurstof, die werd opgenomen.

Bij de kip zijn in overeenstemming met de indeling van Romeis twee soorten eosinophiele cellen beschreven (Rahn 1938, Rahn en Painter 1941, Payne 1942–1946, Wilson 1949, 1952, Legait 1954), terwijl ook twee soorten basophiele cellen met de Kresazan-kleuring volgens Romeis onderscheiden kunnen worden (Legait 1954).

Ook over de frequentie van basophielen en acidophielen is geen éénstemmigheid. In het hoofdstuk „Cyclische veranderingen" zal op deze onderzoekingen hieromtrent nader worden ingegaan.

Uit het bovenstaande zal het de lezer duidelijk worden, dat er grote verwarring bestond en ten dele nog bestaat, betreffende de juiste indeling der celsoorten in de hypophysevoorkwab. Verder bestaat er een neiging om steeds meer celsoorten te onderscheiden. De reden hiervan is wel, dat men het aantal celsoorten gaarne in overeenstemming zou willen brengen met het aantal voorkwabhormonen, dat men thans kent.

Begrijpelijk is er dus gezocht naar andere criteria, om tot een rationele indeling der cellen te komen. Koch (1942) concludeert aan de hand van een groot aantal kleurproeven op duivenhypophysen, dat het practisch onmogelijk is, de celtypen te differentiëren naar hun kleur in het preparaat. Hij vindt, dat men met meer succes de vorm der granula als criterium kan aannemen. Daartegenover staat de mededeling van Van Soos (1934), dat de kleurmethode de vorm en grootte der granula beinvloedt, zodat ook dit criterium niet de gewenste oplossing brengt.

Beschouwt men de redenen, die tot de verschillende, deels tegenstrijdige, opvattingen over de aanwezigheid der celsoorten

in de hypophysevoorkwab leiden, dan zijn dit de volgende:

1. Verschillen voortvloeiend uit het gebruik van verschillende technieken.
   Met eenzelfde kleurmethode kunnen bij verder constant blijvende factoren verschillen ontstaan, doordat verschillende fixatieven zijn gebruikt. Interessant is in dit verband nog de waarneming van Racadot (1949), dat in embryonaal materiaal, onder invloed van „slechte" fixatiemethoden, typische alpha-cellen in het Azanpreparaat het aspect van „cyanophielen" kunnen krijgen. Dat het fixatiemiddel van invloed op de kleuring is blijkt ook uit het feit, dat Briseno-Castrejon en Finerty (1949) bij de rat de alpha-cellen minder talrijk vinden na fixatie volgens Bouin, dan na fixatie volgens Regaud of met Zenker-formol.
   Verder is het ook mogelijk bij constante fixatie de trichrome kleuringen zo te gebruiken, dat sommige cellen naar willekeur als basophielen of eosinophielen te kleuren zijn (Mc. Letchie 1944, Pearce 1953, Burt c.s., 1954).
   Voorts kunnen beoordelingsfouten ontstaan, doordat men resultaten vergelijkt, die met verschillende kleurtechnieken bereikt zijn. Een basophiele cel met de Azankleuring gevonden, behoeft beslist niét identiek te zijn met een bêta-cel, gevonden met de Kresazankleuring.

2. Verschillen ontstaan door een wisselende afgrenzing der verschillende celsoorten. Met een bepaalde kleurmethode worden talrijke cellen gevonden, die niet duidelijk te classificeren zijn. Deze worden door de ene auteur bij deze groep, door de andere bij een andere groep gerekend.
   Zo vermeldt Koch (1942) onder de benamingen middelgrote acidophiele, grote acidophiele cellen en acidophiele reuscellen, cellen, die door andere auteurs zeker tot de chromophoben gerekend worden.

3. Verschillen, ontstaan door het vergelijken van verschillende species.
   Hieraan moeten nog worden toegevoegd verschillen, die in één diersoort tot uiting komen, doordat met materiaal van verschillende leeftijd, of uit een verschillend jaargetijde gewerkt werd.

De histologische kleurmethoden zijn dus in vele gevallen niet geheel toereikend om bijvoorbeeld functionele problemen, betreffende de hypophysevoorkwab, op te lossen. Hoewel er in de gebruikelijke leerboeken thans wel overeenstemming is over de hoofdindeling, zal, zoals uit bovenstaande duidelijk zal zijn, vooral een quantitatief onderzoek van de hypophyse bemoeilijkt worden door de genoemde verschillen. Het is dus begrijpelijk, dat er door diverse onderzoekers getracht is andere criteria voor een juiste indeling der celsoorten in de hypophysevoorkwab aan te leggen. We noemden reeds de overigens niet bevredigende pogingen van Koch (1942), om de vorm der granula als maatstaf aan te nemen, terwijl bijvoorbeeld Severinghaus (1933) het Golgisysteem als criterium voor differentiatie gebruikt.

Alles samengenomen zou men de neiging kunnen krijgen, zich af te vragen, of het wel zin heeft, met gewone histologische kleurmethoden de verschillende celsoorten te differentieren, met name of het voor een deel geen artefacten zijn, die we bekijken. Steun voor een dergelijke opvatting zou men kunnen putten uit de onderzoekingen van Racadot (zie blz. 28). Toch zijn er vooral de laatste tijd aanwijzingen gevonden, dat het wèl zin heeft tenminste acidophiele, basophiele en chromophobe cellen of zo men dit liever wil, α, β en γ cellen, in de hypophyse te onderscheiden. Enkele van deze aanwijzingen willen wij tot slot van dit hoofdstuk vermelden.

Er zouden namelijk verschillen in vitamine C-gehalte van acidophielen en basophielen voorkomen (Romeis, (1940), Mancini (1950) e.a.), hoewel ook hierover de meningen niet eensluidend zijn. Verder vond Abolins (1948, 1949) bij de cavia de acidophiele cellen rijk aan zure phosphatasen, de basophielen betrekkelijk armer. Alkalische phosphatase werd door dezelfde auteurs wel in acidophiele, niet in basophiele en chromophobe cellen gevonden. Ladman en Barnett (1954) vonden, dat in de acidophiele cellen aan eiwitgebonden sulfhydril- en disulfidegroepen voorkwamen en niet in de overige cellen.

Rennels (1953) vond in de rattenhypophyse phospholipiden in de acidophielen en niet in de basophielen.

Landing (1954) heeft er in dit verband op gewezen, dat een deel van de methodieken, beschreven om de alpha-granula (eosinophielen) te kleuren grote overeenkomst vertonen met mitochondrieënkleuringen. De mitochondrieën bezitten, zoals bekend een hoog phospholipide gehalte. Ook electronenmicroscopisch werden verschillen

tussen de drie celtypen gevonden (Rinehart en Farquhar, 1953).

Toch raken ook deze onderzoekingen niet *per se* aan de wezenlijke verschillen; n.l. een verschil in hormonen, die de hypophysecellen zouden produceren. Histochemische onderzoekingen van de laatste jaren hebben het echter hier mogelijk gemaakt, althans voor enkele hormonen, de localisatie direct vast te stellen. Hierop zal in het IVe hoofdstuk nader worden ingegaan.

Bij onze *eigen onderzoekingen*, hebben we op grond van het voorgaande, gebruik gemaakt van een beproefde en gestandaardiseerde methode. We kozen daarom de Azanmethode, met constante kleurtijden. Bij de beoordeling werd slechts onderscheid gemaakt tussen acidophielen, basophielen en chromophoben.

Onder acidophielen verstaan we alle cellen, die in het Azanpreparaat fijnere of grovere oranjerode tot donkerrode granula bevatten, of waarbij het protoplasma zich zo intensief oranje tot rood kleurt, dat bezwaarlijk van chromophoben kan worden gesproken. Onder basophielen worden verstaan al die cellen, die in het Azanpreparaat blauwe tot blauwpaarse granula, of een protoplasma, dat zich zo kleurt, vertonen. Onder chromophoben verstaan we alle cellen zonder duidelijke granula met een ongekleurd tot grijs gekleurd protoplasma (zie ook blz. 50).

DE ONDERLINGE BETREKKINGEN TUSSEN DE CELSOORTEN; CYCLISCHE VERANDERINGEN IN DE HYPOPHYSE

Het is begrijpelijk, dat bij een orgaan, waarvan de beschrijvende cytologie zoveel moeilijkheden geeft, een beschouwing over de structurele veranderingen in het functionerende orgaan op veel theorieën zal stuiten. Twee problemen zullen hier onze aandacht hebben:

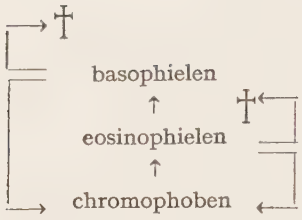
1. de onderlinge betrekkingen tussen de celtypen en
2. de cyclische veranderingen, die zich in de hypophyse tijdens het leven voordoen.

Wat betreft de *onderlinge betrekkingen tussen de celtypen* is de oudste opvatting, dat er in principe slechts één celsoort in de hypophyse bestaat, en dat de verschillende celbeelden, die wij door het microscoop waarnemen, slechts functionele toestandsbeelden van dit éne celtype zijn. Deze opvatting komt in verschillende modificaties voor. De belangrijkste is wel die van Collin, (1933). Volgens deze auteur (zie ook blz. 32, fig. A) zouden hoofdcellen (chromophoben) het begin van een cyclus vormen. Uit de hoofdcellen ontstaan volgens hem de eosinophielen. Deze kunnen weer overgaan in hoofdcellen, of wel, ze degenereren, of ze gaan in basophiele cellen over.

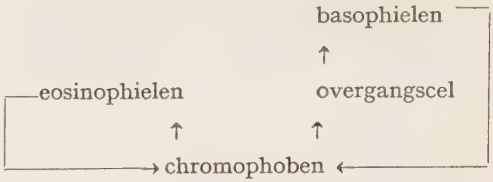
Ook de basophielen kunnen echter weer in chromophoben overgaan of degenereren. Een dergelijke unitaristische opvatting wordt ook in meer recente publicaties verdedigd door Racadot (1949), terwijl ook Wilson (1949) bij de kip de acidophielen, althans tijdens het embryonale leven, uit basophielen ontstaan denkt.

Hiertegenover staat een groep auteurs, die in de hypophyse twee of meer onafhankelijke systemen van cellen aannemen.

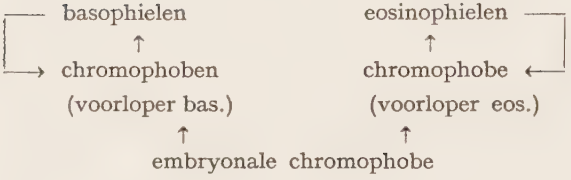
Kraus (zie blz. 32– fig. B) meent dat uit de chromophoben een z.g. overgangsceltype ontstaat, dat protoplasmarijker is en zich minder neutraal kleurt. Hieruit zouden de basophielen ontstaan. De eosinophielen ontstaan volgens hem direct uit de chromophoben. Door dégranulatie zouden uit eosinophielen en basophielen weer chromophoben kunnen ontstaan. Een verwante opvatting heeft



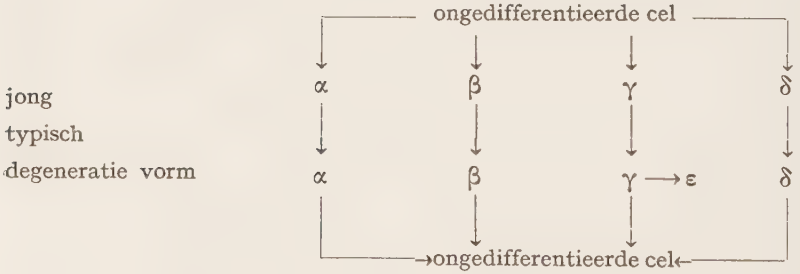
A. vlgs. Collin



B. vlgs. Kraus



C. vlgs. Severinghaus



D. vlgs. Romeis

ook Severinghaus (1933) (zie blz. 32 - fig. C). Deze meent n.l. drie soorten chromophoben te kunnen onderscheiden: de embryonale chromophoben, en (op grond van het Golgisysteem daarvan af te scheiden) de chromophoben, die later eosinophielen, en de chromophoben, die later basophielen zullen worden. Romeis (1940) meent op grond van literatuurstudie en eigen waarneming het unitaristisch systeem voor de mens niet te kunnen aanvaarden. Hij meent, dat niet alleen de alpha- en bêta-cellen, doch ook de andere door hem beschreven celtypen een eigen cyclus doormaken. Enigszins vereenvoudigd wordt zijn opvatting op blz. 32, afb. D schematisch weergegeven.

Het invoeren van nieuwe, histochemische kleurmethoden biedt de mogelijkheid weer nieuwe relaties tussen de verschillende celsoorten aan te nemen (Burt-Russfield 1957) (zie blz. 44).

Het zal de lezer duidelijk zijn dat, daar zowel de afgrenzing der celsoorten in de hypophyse met histologische methoden, zowel als met de later te bespreken histochemische methoden, nog vele moeilijkheden biedt, het opstellen van een theorie over de afhankelijkheid der celsoorten uiterst speculatief is, en voorlopig nog zal blijven.

Het tweede probleem dat in dit hoofdstuk onze aandacht zou hebben is dat der *cyclische veranderingen in de hypophyse*. Reeds lang is in de literatuur bekend, dat de verschillende celtypen der hypophyse op verschillende momenten in wisselende verhouding aanwezig zouden zijn. Deze verschillen zouden gecorreleerd zijn aan:

1. *De leeftijd van het individu.*

Bij zeer jonge embryonen is een differentiëring van celsoorten nog niet aanwezig.

Over het eerste optreden der verschillende celsoorten tijdens de ontwikkeling zijn de mededelingen zeer tegenstrijdig, hetgeen begrijpelijk is, als men denkt aan de verwarring, die er over de cytologie der volwassen hypophyse bestaat.

Bij de duif zouden volgens Schooley en Riddle (1936, 1938) de eerste eosinophiele granula tussen de 12e en 16e dag der bebroeding optreden, de basophiele granula eerst 1½ maand nà het uitkomen. Ook Koch (1942) meent, dat de eosinophiele cellen reeds bij het embryo ontstaan; en dat zij kort na de geboorte in grote hoeveelheid voorkomen. De basophielen zouden soms in gering aantal

vanaf de 4e dag aangetroffen worden, zich in de eerste maand vermeerderen, tot ze in ongeveer de 7e week, de voor het volwassen individu karakteristieke frequentie hebben.

Rahn (1938) zag bij het kippenembryo de eerste chromophielen ongeveer op de 10e dag der ontwikkeling ontstaan, en wel basophielen, zowel als eosinophielen. Payne (1946) meent bij het kippenembryo op de 17e dag enkele eosinophielen waar te nemen, terwijl de meeste chromophiele cellen na het uitkomen zouden ontstaan.

Wilson (1949, 1952) vond bij het kippenembryo met een Bodiankleuring de eerste volontwikkelde basophielen op de 8e dag. Na de 10e dag zouden volgens deze auteur in bepaalde gebieden reeds acidophielen ontstaan, die rood-bruine korrels bevatten.

Tixier-Vidal (1954) tenslotte meent eveneens bij de kip de 13e dag na de bebroeding de eerste acidophielen te zien. Basophielen verschijnen op de 14e dag. Met de P.A.S.-kleuring (zie blz. 41) ziet deze auteur de P.A.S.-positieve cellen enkele dagen eerder. Zeker is dus dat tijdens het embryonale, post-embryonale en volwassen stadium de opbouw der hypophyse niet constant is. Doch ook met het verouderen verandert de hypophyse. Voor de kip werden deze veranderingen beschreven door Payne (1946), o.a. daling der eosinophielen.

2. *Van het geslacht van het individu.*

Bij de duif vindt Koch (1942) b.v. bij mannetjes meer eosinophielen. Bij vele mammalia en vogels is de hypophyse bij vrouwelijke individuen duidelijker cyclisch (punt 3).

3. *Van het jaargetijde en de geslachtscyclus.*

Voor de zoogdieren zijn de veranderingen in de hypophyse van het vrouwelijk individu bestudeerd door Wolve, Cleveland en Campell (1933) Cleveland en Wolve (1933), Wolve (1935). Bij de verschillende species werden echter geen identieke veranderingen gevonden. Bij hond en varken b.v. vindt men onder andere aan het eind van de luteinephase een vermindering der eosinophielen. Bij de rat daarentegen, welke geen luteinephase vertoont, werd op geen enkel ogenblik een quantitatieve verandering van het aantal eosinophielen gevonden.

Ook bij amphibieën en vissen zijn cyclische veranderingen in de hypophyse beschreven, doch ook hier worden door verschillende

auteurs bij verschillende species andere verhoudingen gevonden.

Wat betreft de vogelhypophyse zou, volgens Romeis, Desogus (1926), de eerste zijn geweest, die veranderingen in de hypophyse, en wel bij de kip, heeft beschreven, die als cyclische veranderingen te interpreteren zijn. Drie dagen na het uitkomen van de jongen werden in de voorkwab der hennen kleine cellen met basophiele granula gevonden. Weinig colloid was toen aanwezig. Dertig dagen later traden grote cellen met eosinophiel protoplasma en fijne basophiele granulatie op. Tijdens de legperiode vond hij grote chromophiele cellen met fijne basophiele granula en vond hij ook talrijke colloid-houdende follikels.

Podhradsky (1935) vond, óók bij de kip, gewichtsveranderingen in de hypophyse. Het grootste gewicht werd vastgesteld ten tijde van de grootste ontwikkeling van de schildklier, d.w.z. in de winter, voordat de leg begint.

Columbi (1934) vond bij leggende hennen de eosinophielen vermeerderd en sterker gekleurd; de basophielen waren gelijktijdig verminderd.

Romeis vermeldt, dat hij in het voorjaar talrijke alpha-cellen vindt bij de geslachtsrijpe haan.

Bij de merel vond Schildmacher (1937) een verschil in de veranderingen tussen vrouwelijke en mannelijke individuen. Bij de eerste vond hij in de maanden maart tot mei en in september tot november duidelijke eosinophielen; bij de mannelijke vogels werden alleen in het voorjaar eosinophielen in flinke aantallen gevonden.

Mazzen en Blinov (1936) daarentegen vonden bij de duif als enige chromophiele cellen, de basophielen. Bovendien stelden zij vast, dat het aantal dezer cellen tijdens de geslachtscyclus *niet* veranderde.

De eerste uitvoeriger onderzoekingen over de cyclische veranderingen in de hypophyse bij vogels zijn die van Schooley en Riddle (1936, 1938) bij de duif. Zij kleurden hun preparaten volgens Severinghaus, en onderscheidden acidophiele, basophiele en chromophobe cellen. De basophielen zijn groter dan de acidophiele cellen, de chromophoben zijn het kleinst en meestal peripheer geplaatst. In totaal zouden er meer basophielen dan eosinophielen voorkomen.

Tijdens de groei der eieren zijn de basophielen gedégranuleerd, dit wordt als secretie-activiteit opgevat. Ten tijde van de ovulatie en daarna, zouden ze degenereren; de granula klonteren

samen tot grotere brokken en laten het protoplasma structuurloos.

De eosinophielen vertonen vóór de ovulatie, tijdens de eerste week van de broedtijd, en gedurende het voederen van de jongen dergelijke tekenen van activiteit. De wisselingen in het aantal der cellen zouden zonder betekenis zijn. In de laatste periode zijn ook de acidophielen bij mannelijke individuen in een actief stadium. Bij vrouwelijke individuen zijn de cyclische veranderingen dus het meest uitgesproken.

Koch (1942) heeft onderzoekingen bij de duif verricht en komt tot – voor een deel – tegenstrijdige bevindingen. Hij onderscheidt zes celtypen naar kleuring en vorm der granula, en gebruikte naast de Azankleuring nog een haematoxyline-eosine-kleuring; de kleuring volgens Kraus; en een kleuring volgens Erdheim en Strumme.

De embryonale of primaire cellen, die de embryonale hypophyse vormen, blijven, volgens hem, zij het voor een klein gedeelte, bij het geslachtsrijpe dier bestaan. De chromophoben of neutrophielen zijn bij het geslachtsrijpe individu optredende grote cellen zonder granula. Zij zouden in een klein aantal (10%) aanwezig zijn. Onder acidophiele cellen verstaat hij, zoals hij het uitdrukt, ,,alle cellen, die acidophiel zijn.'' Hij onderscheidt hiervan twee groepen; de *eerste groep* omvat grote en middelgrote acidophielen en acidophiele reuscellen, die grote overeenkomst met de hoofdcellen (dat zijn de chromophoben) uit de menselijke hypophyse zouden hebben.

De ,,eosinophielen'' vormen de *tweede groep* acidophielen; de granula zijn rond en klein en zeer dicht gezaaid. De basophielen bevatten ongelijk grote, scherp begrensde, hoekige granula, die wisselend basophiel zijn. Ook hier worden weer weinig en sterk gegranuleerde, grote en kleine basophielen onderscheiden. De door hem beschreven ambophiele cellen zijn, zowel met de Azanmethode, als met de haematoxyline-eosine-kleuring, blauw-violet en zeer sterk kleurbaar. Zij komen slechts in de randgebieden voor. Als ,,Kleinzellen'' beschrijft hij dan nog cellen met duidelijke kern en zeer weinig protoplasma. In tegenstelling tot de waarnemingen van Schooley en Riddle zouden de eosinophielen de basophielen in aantal overtreffen. De fluctuaties in aantallen van de verschillende celtypen zijn volgens Koch *wel* van betekenis. Zo worden bij vrouwelijke individuen de basophielen frequent in leg- en broedtijd, de eosinophielen zijn ook tijdens de rui zeer frequent. Bij mannelijke individuen zijn deze veranderingen ook aanwezig, zij het minder duidelijk. Vooral in de basophielen zijn de wisselingen niet erg opvallend. De acido-

phielen en eosinophielen overheersen hier het beeld en veranderen duidelijk cyclisch. Ook door Koch wordt het zwaartepunt echter gelegd op de veranderingen in secretie activiteit, waarbij activiteit in dezelfde zin als door Schooley en Riddle aangenomen wordt, n.l. vermindering van het aantal granula.

Voor de kip werden in latere onderzoekingen cyclische veranderingen in de hypophyse beschreven tijdens het leggen en broeden door Payne (1943) en door Legait en Legait (1954, 1955). Deze laatste auteurs vinden ook quantitatieve veranderingen, n.l. in de periode vóór de leg, een toename van de basophielen; en tijdens de leg en het bebroeden, een toename van de eosinophielen.

HET VERBAND TUSSEN CELSOORTEN EN HORMOONPRODUCTIE

Meende men aanvankelijk het ontstaan van zeer vele hypophysehormonen te moeten aannemen, – zelfs Koch noemde er in 1942 niet minder dan 13 voor voor - en achterkwab tezamen, – de laatste jaren is men meer en meer van mening, dat dit grote aantal meer werkingen dan hormonen betreft. Toch blijven nog altijd minstens zes hormonen door de hypophyse geproduceerd, waarvan men getracht heeft de productie in één der celsoorten te localiseren, en wel:

1. het groeihormoon,
2. het lactogeenhormoon, prolactine of luteotropine,
3. het thyreotroop hormoon,
4. de gonadotrope hormonen, het L.H. en het F.S.H.,
5. het adrenocorticotroop hormoon.

Deze hormonen kunnen in twee groepen verdeeld worden op basis van hun koolhydraatconcentratie (Pearse, 1952), en wel een koolhydraat-bevattende groep, het F.S.H., L. H. en thyreotroop hormoon en een koolhydraat-vrije groep, het groeihormoon, het lactogeen hormoon en het adrenocorticotroop hormoon.

De methodieken waarvan men zich bij de localisatie van deze hormonen bediend heeft zijn de volgende:

1. Het bestuderen van de hypophyse bij toestanden van hyper- of hypoactiviteit van één der andere endocriene klieren, hetzij als ziekelijke toestand of experimenteel opgewekt. De afwijkingen in de hypophyse worden dan als remmings-, resp. ontremmingsverschijnselen opgevat, en de celsoort, waarin de veranderingen optraden, wordt als productieplaats van het betreffende hypophysehormoon beschouwd. Voor de niet op endocriene organen werkende hormonen wordt de verminderde of vermeerderde periphere werking als criterium aangenomen en gecorreleerd met veranderingen in aantal of aspect van een bepaalde celgroep in de hypophyse. De moeilijkheid bij dergelijke onderzoekingen

is, hoe de veranderingen in de hypophyse te interpreteren. Veelal gaat b.v. de overprikkeling van de hypophyse na het verwijderen van een endocrien orgaan, gepaard met een afname van een bepaalde celsoort, b.v. een bepaald type basophielen, en de vermeerdering van een celsoort, die normaliter slechts in geringe hoeveelheid in de hypophyse voorkomt. Men kan hieruit zowel besluiten, dat de normale productieplaats de basophiele cel is, als dat onder normale omstandigheden de gering voorkomende cel de productieplaats is.

2. Het bestuderen van cyclische veranderingen in periphere organen in verband met cyclische veranderingen in de celsoorten der hypophyse.
3. Het pharmacologisch aantonen van een bepaald hypophysehormoon in een bepaald hypophysegebied, waar één celtype overweegt.
4. Het histologisch direct aantonen van het hormoon in een bepaalde celsoort van de hypophyse op chemische of immunochemische wijze.

Deze laatste onderzoekingen zijn slechts voor de gonadotrope stoffen, het thyreotroop hormoon en het adrenocorticotroop hormoon uitgevoerd. Zij zijn natuurlijk doorslaggevend bij het oplossen van de verschillen in opvatting, die bij onderzoekingen met andere methoden ontstaan zijn.

Het *groeihormoon* wordt op grond van het vaak overwegen van eosinophiele cellen in de hypophyse bij acromegalie, en het afwezig tot sterk verminderd zijn van deze cellen bij dwergen en dwergmuizen, in de eosinophielen gelocaliseerd. Ook het overwegen van groeihormoon in de periphere zone der hypophyse, waar veel eosinophiele cellen gelocaliseerd zijn, wordt als argument hiervoor aangevoerd. Vermeldenswaard is, dat Gaillard (1937a) in weefselkweek groeihormoonproductie door ,,chromophobe'' cellen – althans door cellen, die niet als chromophielen te herkennen zijn – aan kon tonen, zodat de productie zeker niet uitsluitend aan de aanwezigheid van eosinophiele granula gebonden lijkt te zijn.

De productie van het *lactotrope hormoon* wordt door Schooley en Riddle (1936, 1938), op grond van de activiteitsverschijnselen in de eosinophielen tijdens het voederen van de jongen, eveneens aan deze cellen toegeschreven. Ook pharmacologische methoden maken

dit waarschijnlijk. Lacour (1950) meent, op grond van het feit, dat ratten, met een hypophyse-adenoom van orangeophiele cellen (epsiloncellen van Romeis), na oestronbehandeling, melksecretie vertoonden, dat de orangeophiele cellen mogelijk betrokken zijn bij de secretie van het prolactine. Dawson (1946) meent de luteotropine activiteit aan de carminophielen cellen te moeten toekennen, terwijl Herlant (1952*a*), die de biologische activiteit van gefractionneerde hypophysecentrigugaten onderzocht, meent, dat de luteotrope werking aan de acidophielen behoort.

De productieplaats der *gonadotrope hormonen* is met alle vier der genoemde methoden bestudeerd. De toename van gonadotropine in de urine bij gecastreerde dieren werd gecorreleerd met de toename in aantal en met verandering in de basophielen, die daarmee gepaard gingen. Ook op grond van clinische waarnemingen wordt in de basophielen de gonadotrope activiteit gelocaliseerd.

Wat betreft de *cyclische veranderingen* in de hypophyse, waarbij ons hier vooral die in de vogelhypophyse interesseren, correleerden Schooley en Riddle (1936, 1938) de veranderingen in de basophielen tijdens de ontwikkeling van de eieren met de productie van gonadotrope hormonen. Ook Koch (1942) schrijft aan de basophielen de productie van gonadotrope hormonen toe. Hij wijst er echter nadrukkelijk op, dat niet alle basophielen aan de activiteit tijdens de productiephase deelnemen.

Severinghaus (1937) komt tot de opvatting, dat de twee gonadotrope hormonen een verschillende productieplaats hebben; het F.S.H. zou in de basophielen, het L.H. in de acidophielen geproduceerd worden. Herlant (1952a) meent in gefractionneerde hypophysecentrifugaten de gonadotropine-activiteit aan de basophielen te moeten toeschrijven. Giroud en Martinet (1948, 1952) vonden na implantatie bij jonge ratten van de anteromediane gedeelte van paarden- en varkenshypophyse (rijk aan basophielen), een sterke toename van het gewicht van het genitaalapparaat, waardoor ook zij de secretie van gonadotrope stoffen (F.S.H.) door de basophielen aannemen. Baraknikova (1950) vond in analoge proeven een hoog gehalte aan gonadotrope stoffen in de basophiele gebieden bij de steur.

De gonadotropinen zijn chemisch in te delen bij de mucoproteïnen. Evans e.a. toonden aan, dat de F.S.H.-bevattende fractie van

schapenhypophyse 10.3-13.1% hexose bevatten en 8% glucosamine. Volgens deze auteurs zou de luteiniserende fractie 3.6-5.4% mannose bevatten en ook een mucoproteïne zijn. (Zie Pearce 1949).

Mogelijk is reeds vroeger, zij het onwetend, gewezen op het aanwezig zijn van mucoide stoffen in basophielen.

Oudere onderzoekingen vermelden bij mens en zwijn het positief uitvallen van de mucikarmijn kleuringen in de basophielen; een thionine, of toluidineblauw kleuring (Romeis) zou negatief zijn. Herlant heeft echter in 1942 en 1943 bij nauwkeurige onderzoekingen met toluidineblauw ontdekt, dat de inhoud der basophielen zich wel degelijk gedraagt als een mucoproteine.

Het gebruik van de perjoodzuur-Schiff reactie (P.A.S.-reactie) in de histologie als histochemische test voor mucopolysacchariden, mucoproteinen en glycoproteinen, onafhankelijk van elkaar geintroduceerd door Mc Manus (1946) en Hotchkiss (1948) gaf de directe mogelijkheid van de localisatie van gonadotrope stoffen. Mc Manus, die aanvankelijk slechts constateerde, dat sommige van de hypophysecellen zich positief kleurden, meende later dat dit de acidophiele cellen waren (1948). Deze mening wordt in latere onderzoeking slechts gesteund door Pali (1952).

Catchpole (1947, 1949) was de eerste, die bij ratten het P.A.S.-positieve materiaal localiseerde in de basophiele cellen. In latere onderzoekingen besluit hij uit castratieproeven en uit bestudering van de hypophyse tijdens de geslachtscyclus, dat een deel van het glycoproteine het F.S.H. is.

Ook Pearse (1949) identificeert in menselijk materiaal de cellen, die P.A.S.-positief materiaal bevatten met de basophielen. De korrels van deze cellen zouden niet sterk metachromatisch zijn t.o.v. toluidineblauw of thionine, zoals karakteristiek voor mucopolysacchariden en de P.A.S.-posiviteit verdwijnt niet met diastase en hyaluronidase. Hij acht de P.A.S.-positieve korrels identiek met het gonadotropine en meent, dat de acidophielen, die geen P.A.S.-positief materiaal bevatten, dus geen F.S.H. of L.H. kunnen produceren. Behalve in de basophielen vond hij ook P.A.S.-positief materiaal in sommige chromophoben.

In latere publicaties (Pearse 1950, 1952, 1953), vindt hij een bevestiging van de eerste waarnemingen. Hij analyseert de cellen van menselijke hypophysen met talrijke andere histochemische methoden en komt tot een nadere onderverdeling van de P.A.S.-positieve cellen, die hij mucoide cellen wil noemen.

Hij verdeelt deze mucoide cellen in drie groepen:

1. chromophobe cellen, die P.A.S.-positieve granula of vesiculae bevatten.
2. cellen met P.A.S.-positieve granula, donkerkleurend met de Mallory kleuring, wisselend metachromatisch t.o.v. toluidine blauw, Gram positief. Deze cellen noemt hij bêta-cellen.
3. cellen met P.A.S.-positieve granula, lichtblauw, soms roodkleurend met de Mallory kleuring, Gram negatief, orthochromatisch t.o.v. toluidineblauw. Voor deze cellen gebruikt hij de benaming gamma-cellen.

Door vergelijkende tellingen volgens de techniek van Rasmussen (zie blz. 48) in volgens Mallory gekleurde en P.A.S. gekleurde coupes kon hij aantonen dat de mucoide cellen de Mallory's basophielen met 12–25% overtroffen.

De acidophielen vindt hij behalve bij de mens ook bij de rat, het konijn en het schaap niet positief kleurend.

Ook bij deze species zouden de acidophielen volgens auteur minder dan 1% koolhydraten bevatten en dus niet in aanmerking komen voor de productie van koolhydraat bevattende hormonen (F.S.H., L.H. en thyreotroop hormoon).

Ook door andere auteurs (Hotchkiss 1948, Herlant 1949, 1950, Joste en Gonse 1953, Alare 1953, Calapà 1953, Cassarini en Rossi 1953., Purves en Griesbach 1950) werden met de P.A.S.-methode de hypophysen bij verschillende objecten en onder experimentele omstandigheden bestudeerd. Ook zij komen tot de conclusie, dat de P.A.S.-positieve cellen voornamelijk de basophielen omvatten, en dat zij in verband staan met de productie van gonadotrope en thyreotrope stoffen. Het is begrijpelijk, dat getracht werd twee soorten P.A.S.-positieve cellen te onderscheiden, en aan elke soort de productie van één van de twee hormonen toe te kennen. Zulk een onderscheiding zou dan weer aansluiten bij indelingen van de basophielen zoals die met de histologische kleurmethode gegeven werden (volgens Romeis).

Purves en Griesbach (1951*a*) – die reeds eerder hadden aangetoond dat er verband bestond tussen aantal en aspect van de basophiele cellen en de toegenomen thyreotropine-secretie - bestudeerden onder experimentele omstandigheden de hypophyse van ratten met de P.A.S.-techniek. Zij vonden in normale hypophysen een exacte overeenkomst tussen P.A.S.-positieve cellen en cyanophiele cellen, zoals die volgens de Mallory techniek gevonden worden;

dit dus in tegenstelling tot de vondsten van Pearse bij menselijk materiaal. Zij konden de cellen in twee groepen verdelen. De eerste groep – gonadotrope cellen, die veranderden na injectie van oestrogenen –, was voornamelijk peripheer in de hypophyse gelegen, onder het oppervlak en bij de pars intermedia en rondom de grote vaten. Deze cellen zijn rond of ovaal van vorm, met forse, donkerrood kleurende granula (P.A.S.). De tweede groep, de thyreotrope cellen, ligt meer centraal, niet langs de vaten. De vorm van deze cellen is meer polygonaal. De granula in het P.A.S. - preparaat zijn geel tot rood. Deze tweede groep reageerde op experimentele verandering in de thyroxineproductie.

Eerder vermeldden wij reeds, dat Halmi (1950, 1951), ook bij ratten, met de aldehydfuchsine-methode van Gomori, cellen vond, die zich daarmee kleurden (de bêta-cellen) en gamma-cellen, die zich met „light green" kleurden. Beide celtypen moeten tot de basophielen gerekend worden. Na castratie vond Halmi een sterke stijging van het aantal delta-cellen en geslachtsverschillen in het aantal van deze cellen. Na thyreoidectomie zag hij een hyperplasie en vacuolisatie van de alpha-cellen en een sterke vermindering van het aantal bêta-cellen. Hij neemt in deze eerste publicaties aan, dat de delta-cellen de meest waarschijnlijke productieplaats van F.S.H. en thyreotroop hormoon zijn. Na de onderzoekingen van Purves en Griesbach, is zowel door deze onderzoekers (1951*b*, *c*) als door Halmi (1952*b*) getracht beide onderzoekingen met elkaar in overeenstemming te brengen. Halmi meent (1952) nu, dat de grote gevacuoliseerde aldehydfuchsine - negatieve cellen, na thyreoidectomie ontstaan, afkomstig zijn van bêta-cellen, die de affiniteit voor aldehydfuchsine verloren hebben.

Cassarini en Rossi (1953) nemen ook een scheiding van gonadotrope en thyreotrope cellen aan. (ratten- en menselijk materiaal). Bij ratten zouden basophiele cellen gevonden worden, die geen mucoide cellen zijn en omgekeerd. Bij menselijk materiaal was in de meeste gevallen het resultaat van de anilineblauw-kleuring identiek met de P.A.S.-positiviteit. Onder pathologische omstandigheden zou het „basophiel- en mucoide-celbegrip" elkaar niet dekken.

De aldehydfuchsine-methode heeft volgens hen alleen waarde onder normale omstandigheden, daar in pathologische omstandigheden de thyreotrope cellen hun affiniteit voor aldehydfuchsine kunnen verliezen.

Siegel (1955) meent dat bij de vleermuis de aldehydfuchsine -

positieve cellen de thyreotrope cellen zijn. Zij zouden identiek zijn met de cellen, die zich met anilineblauw kleuren (basophielen). Deze cellen zouden zich ook met een P.A.S.-kleuring positief kleuren. Daarnaast zouden P.A.S.-positieve cellen bestaan, die niet basophiel in de gebruikelijke betekenis zijn. Deze zouden de gonadotrope stoffen vormen. Deze twee groepen tezamen vormen de echte basophielen, die zich kleuren met methyleenblauw bij een pH 4.3-3.17.

Burt-Russfield (1957) onderscheidt met de P.A.S.-oranje G techniek vijf soorten cellen in de menselijke hypophyse: de ,,basophielen" met veel intensief kleurende P.A.S.-positieve granula, de acidophielen, welke zich met orange G kleuren, en de chromophoben, die klein zijn en een niet gegranuleerd cytoplasma bezitten. Daarnaast komen in de normale hypophyse betrekkelijk zelden voor de z.g. amphophielen, waarvan de karakteristieke granula zwak positief zijn. Verder dan nog de van deze laatste door dégranulatie en veranderingen in de kern afgeleide z.g. hypertrophische amphophielen. In normale hypophysen zou er een redelijke overeenstemming tussen de differentiering der cellen met behulp van de P.A.S.-methode en met de orthodoxe kleurmethoden zijn (Burt en Castleman 1953), echter niet in pathologische omstandigheden. Dit is dus in overeenstemming met de opvattingen van Cassarini en Rossi. Burt-Russfield meent dat de ,,trope" hormonen alle door de amphophielen zouden worden geproduceerd.

De proeven van Herlant (1952*a*) wijzen het meest in de richting van thyreotropine-productie door de basophielen, evenals transplantatieproeven van centrale delen van runderhypophysen, rijk aan basophielen (Giroud en Martinet 1948, 1952).

Ook bij de kip worden de basophielen als productieplaats aangenomen (Payne (1944), Legait (1955), Tixier-Vidal (1954)), al blijft hier in recente publicaties de opvatting bestaan, dat de eosinophielen de thyreotropine producenten zijn.

Wat betreft de productieplaats van het *adrenocorticotroop hormoon*, wijzen proeven, waarbij adrenalectomieën geschieden, het meest in de richting van een productie door basophiele cellen (Mellgren, (1948) Colombo (1949), Tuchman-Duplessis (1951), Tinelli (1954)). Halmi, die aanvankelijk (1950) een mogelijke rol van de bêta-granula bevattende cellen bij de productie van het adrenocorticotroop hormoon aannam, komt in latere studies (1952) tot de conclusie, dat er geen correlatie bestaat tussen het adrenocorticotroop-hormoongehalte van de hypophyse en de hoeveelheid bêta-granula.

Cassarini en Rossi (1953) beschreven P.A.S.-negatieve basophielen, die zij in grote aantallen in de hypophysen van ratten, die aan koude-„stress" blootgesteld waren geweest, hadden aangetroffen. Door deze cellen zou het adrenocorticotroop hormoon geproduceerd worden. Ook Marshall (1951) meent, met de methode van de fluorescerende antilichamen volgens Coons, in de hypophyse van honden, schapen en paarden de productie van het adrenocorticotroop hormoon in de basophielen te moeten localiseren. Doch ook voor een productie in eosinophiele cellen zijn argumenten aan te voeren:

Desclaux en Soulairac (1953) meenden uit transplantatie proeven van runderhypophysen bij ratten te concluderen, dat veel eosinophiele cellen bevattend materiaal een beinvloeding van de bijnier geeft, en dat slechts de eosinophiele cellen adrenocorticotroop hormoon bevatten. Ladman en Barnett (1954) menen op grond van de aanwezigheid van sulfhydril en disulfide groepen in de acidophiele cellen, dat het mogelijk is, dat een disulfide bevattend hormoon, waaronder het adrenocorticotroop hormoon, daar geproduceerd wordt. Ook Herlant (1952*a*, *b*) meent, dat de acidophiele korrels het adrenocorticotroop hormoon bevatten.

Samenvattend heerst blijkens het bovenstaande over de localisatie van de productie van het adrenocorticotroop hormoon zeker geen overeenstemming. De basophielen zijn echter de waarschijnlijkste productieplaats, indien men de proeven van Marshall, waardoor het hormoon direct aangetoond zou worden, als doorslaggevend beschouwd. De productie van het prolactine en van het groeihormoon wordt over het algemeen in de acidophielen gelocaliseerd. De gonadotrope hormonen en het thyreotropine localiseert men, althans bij de zoogdieren, in de basophielen. Deze basophielen zijn èn op grond van histologische, èn op grond van histochemische kleurmethoden, in twee groepen te verdelen. De afgrenzing van basophielen, èn van de twee groepen, waarin zij verdeeld worden, is echter nog geenszins vaststaand. De moeilijkheid is ook hier weer, dat de onderzoekingen bij verschillende species zijn verricht.

De nomenclatuur, die al niet uniform was, is nog ingewikkelder geworden. De gamma-cellen van Romeis zijn chromophoben. De gamma-cellen van Pearse zijn hiermee niet identiek. Deze behoren n.l. tot de basophielen en komen waarschijnlijk overeen met de delta-cellen van Halmi.

De identiteit van de cellen met deze nieuwe methoden gevonden is echter omstreden.

Volgens Purves en Griesbach zouden de P.A.S.-positieve cellen, identiek met de basophielen zijn. Pearse daarentegen meent, dat hoewel alle basophielen P.A.S.-positief zijn, het totaal aantal P.A.S.-positieve cellen dat der basophielen overtreft. Daarnaast bestaat de opvatting, dat er naast cellen, die P.A.S.-positief en basophiel zijn, cellen bestaan, die alleen P.A.S.-positief, en cellen, die alleen basophiel zijn (Cassarini).

Volgens Siegel zouden de aldehydfuchsine-positieve cellen identiek met de basophielen zijn.

Mogelijk bestaan hier voor verschillende species verschillen en hangt ook dit af van de toestand der basophielen.

Wanneer wij thans komen tot een omschreven vraagstelling ten aanzien van de cytologische studie der volwassen hypophyse bij larus ridibundus dan zijn dat de volgende punten:

1. Bestaan er cyclische veranderingen bij larus ridibundus, zoals die bij de duif door Schooley en Riddle en Koch zijn aangetoond?
2. Zo ja, is het mogelijk, deze veranderingen in quantitatieve maat uit te drukken?
3. Is het mogelijk, deze cyclische veranderingen te correleren met de toestand van testis, ovarium en thyreoid?
4. Bestaan er P.A.S.-positieve cellen bij larus ridibundus?
5. Bestaan er aldehydfuchsine-positieve cellen bij larus ridibundus?
6. Indien deze celtypen bestaan, hoe is dan het verband met de celtypen, gevonden met de Azankleuring?

DE VOLWASSEN HYPOPHYSE BIJ LARUS RIDIBUNDUS

EIGEN ONDERZOEK

MATERIAAL EN METHODE

Voor de bestudering van de volwassen hypophyse beschikten wij over 68 volwassen vogels. De verdeling over de maanden van het jaar en de geslachten wordt in tabel II weergegeven.

TABEL II

Maand	♀	♂	Phase
Januari	0	0	
Februari	2	1	
Maart	4	6	I
April	0	2	
Mei	1	2	
	2	2	II
Juni	4	3	
Juli	5	4	III
Augustus	2	4	IV
September	3	4	
October	1	3	INTERVAL
November	4	4	
December	3	2	
Totaal	31	37	

Als fixatiemiddel gebruikten we de vloeistof volgens Bouin Hollande. Ook de ovaria, testes, en glandulae thyreoideae van deze vogels werden in deze vloeistof gefixeerd. Van een aantal vogels, vooral van die uit de wintermaanden, beschikten wij niet over de schildklier. Ook mislukte het uitprepareren der hypophyse een enkele maal, zodat dan slechts de gonaden en de thyreoidea voor onderzoek te gebruiken waren.

De vogels waren op Texel verzameld, en de koppen ter plaatse in

toto gefixeerd. Om het fixatief goed in te laten werken, werden de schedels diep ingesneden. Na fixatie werden de hypophysen uitgeprepareerd, en op de gebruikelijke wijze ingebed in paraffine.

Gonaden en schildklieren werden ter plaatse uitgeprepareerd en gefixeerd en vervolgens in paraffine ingebed.

Van de hypophysen werden van elke maand, voor zover aanwezig, minstens die van een mannelijk en vrouwelijk individu op frontale seriecoupes 8 μ dik gesneden. Deze werden gekleurd volgens de Heidenhainse Azanmethode met constante kleurtijden, zoals aangegeven in Cowdry (1948), blz. 117.

Bij deze op serie gesneden hypophysen werden tellingen verricht volgens de methode van Rasmussen (1929), die voor ons object enigszins werd gewijzigd.

Volgens de oorspronkelijke methode worden horizontale 10 μ dikke coupes van het orgaan gesneden. Op één vierde, de helft, en drie vierde van de totale lengte worden telkens tien 5μ dikke coupes ingelast. Van drie 5μ dikke coupes wordt een aantal gekleurd, volgens een gewijzigde Mallory-methode, en de beste van elke 5μ serie wordt voor tellingen gebruikt. Daartoe wordt volgens het in Plaat I, 9 getekende schema elk vijfde gezichtsveld gedifferentieerd. Voor de menselijke hypophyse worden op deze wijze ongeveer 100 tot 350 gezichtsvelden met in totaal 10.000–30.000 cellen gedifferentieerd. Door Rasmussen en anderen is in talrijke publicaties deze methode statistisch bevredigend bevonden (Romeis). Zij leek ons echter ongewijzigd voor de vogelhypophyse niet geheel geschikt.

De vogelhypophyse is nl. veel kleiner, zodat men volgens de oorspronkelijke methode niet aan een totaal aantal cellen toekomt, dat statistisch bezien in de juiste grootte-orde ligt. Verder bestaat er bij larus ridibundus geen homogene verdeling der chromophielen over de hypophyse. Deze factoren zouden foutenbronnen kunnen zijn bij een bewerking volgens de oorspronkelijke methode. Het leek wenselijk een betrouwbaarder indruk over de hypophysesamenstelling te verkrijgen door van de op 8μ gesneden hypophysen elke 5e coupe te differentieren op de wijze zoals dat door Rasmussen is aangegeven, en niet op een vierde, de helft, en drievierde deel der hypophyse één coupe.

We gebruikten hiervoor een oculair met een eigen vergroting van 9×, en een objectief met een eigen vergroting van 71×. In het oculair was een vierkant gezichtsveld aangebracht van 4×4 mm, waarin een rasterverdeling. Met de door ons gebruikte methode kwamen we, in de met menselijke hypophysen vergelijkbare chro-

mophiele gebieden, tot een totaal celaantal in de grootte-orde van dat van Rasmussen. Al de hypophysen werden door één persoon geteld. Tijdens het tellen was de maand van fixatie aan de onderzoeker niet bekend. Eerst na afloop van alle tellingen en berekening der eindpercentages werden deze opgezocht in eerder gemaakte protocollen. Bij de differentiering in acidophielen, basophielen en chromophoben, werd gebruik gemaakt van de op blz. 30 opgestelde criteria. Een uitgebreidere beschrijving van de celtypen, die in de hypophysen voorkomen,zal hieronder gegeven worden.

Teneinde een eigen indruk over de relatie tussen de Azanmethode en enkele meer histochemische methoden te krijgen, werden van 5 willekeurig over het jaar verdeelde hypophysen seriecoupes op verschillende objectglazen opgeplakt. Van de zo verkregen series werd er één volgens de Azanmethode gekleurd, één met de Gomori's aldehydfuchsine methode volgens Halmi (1952) en één met de perjoodzuur-Schiff methode zoals aangegeven door Pearce (1949). Een drietal hypophysen werden, nadat ze op dezelfde wijze opgeplakt waren, gekleurd volgens de Azanmethode, een P.A.S.-haematoxyline kleuring en een z.g. combinatiekleuring volgens van Duijn (1956).

Van de *glandulae thyreoideae*, die bij larus ridibundus uit twee ongeveer gelijk grote lobben bestaan, werd in gefixeerde toestand van één lob de lengte-afmeting en de grootste afmeting loodrecht daarop bepaald. Daarna werd de gemeten lob op de gebruikelijke wijze in paraffine ingebed, in coupes van 8μ dikte gesneden en elke 9e en 10e coupe opgeplakt en met haematoxyline-eosine resp. volgens Azan gekleurd. Van elke glandula thyreoidea werd in een representatieve coupe de follikel-grootte bepaald door met het tekenprisma de omtrek te tekenen en de gemiddelde doorsnede hiervan te bepalen.

Van de *testikels* werd van de grootste testikel van elk individu de langste afmeting gemeten, en de grootste afmeting loodrecht daarop.

Van de *ovaria*, waarvan bij de vogels slechts één vol ontwikkeld is, werd voor zover meetbaar de doorsnede van de grootste follikel gemeten. In de periode van geringe activiteit zijn deze macroscopisch niet meetbaar.

Hier zullen we allereerst trachten een antwoord op de eerste twee van de op blz. 46 opgeworpen vragen te geven. Het gaat hier dus om het *al of niet voorkomen van qualitatieve of/en quantitatieve veranderingen in de hypophyse gedurende het jaar*. Omdat het zwaartepunt van dit onderzoek bij de quantitatieve veranderingen ligt, willen we deze allereerst beschouwen.

Het is hier de plaats iets dieper op de door ons bij het differentiëren gebruikte criteria in te gaan.

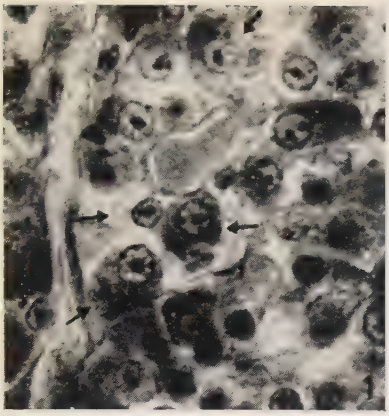
Onder *acidophiele cellen* worden, zoals reeds gezegd, verstaan alle cellen, die in het Azanpreparaat fijnere of grovere oranjerode tot donkerrode granula bevatten, of waarbij het protoplasma zich zo intensief kleurt, dat bezwaarlijk van chromophoben gesproken kan worden. Het grootste deel der acidophiele cellen bestaat uit de grootste cellen der hypophyse (Plaat III, 1c). De korreling is meestal zeer fijn, zodat het soms de indruk maakt of het protoplasma homogeen acidophiel is. Bij andere acidophiele cellen is

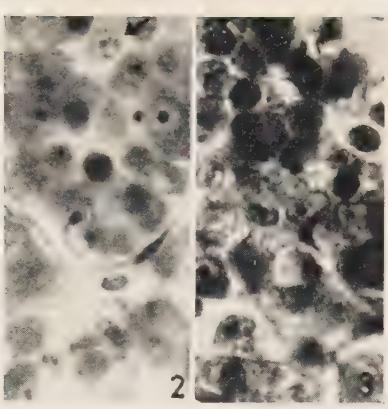
---

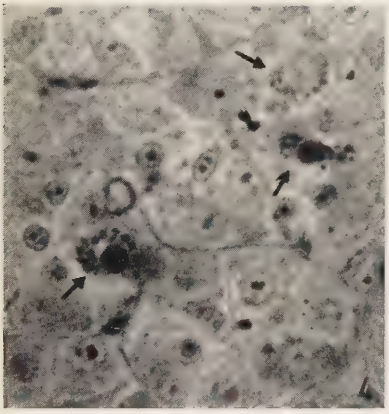
PLAAT III

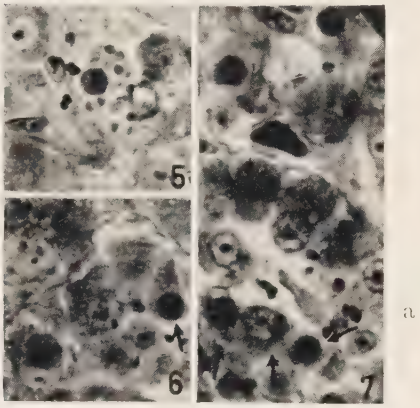
Vergroting, tenzij anders vermeld: oculair 10×, objectief 100× (olie-immersie). Kleuring, tenzij anders vermeld: Azan.

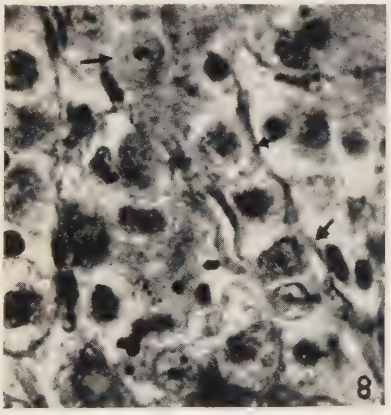
1. *a*. acidophiele cel met granulatie beperkt tot een deel der cel.
   b. chromophobe cel.
   c. grote acidophiele cellen.
2. acidophiele cellen, fijn gegranuleerd.
   a. chromophobe cel.
3. hyperchromatische acidophielen.
4. acidophiele cellen met grote, oranjegele sterk refractiele granula (♀ mei).
5. idem.
6. basophiele cel met excentrisch gelegen kern.
7. a en b kleine hyperchromatische basophiele cellen.
   c kleine basophiele cel.
8. *a*. kleine basophiele cel.
   b. grote basophiele cel met weinig granula.
9. *a*. acidophiele cel met vacuolen.
   b. basophiele cel met dicht gegranuleerd protoplasma.
   c. sterk gevacuoliseerde chromophobe cel.

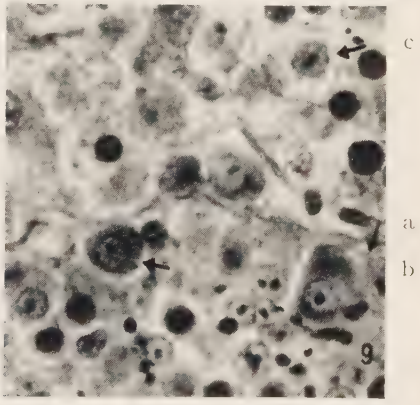

a
b
c
1


a
c
c
2
3


4


5
6
7
a
b
c


b
b
a
8


c
a
b
9

de korreling grover. Soms bestaat deze slechts uit een betrekkelijk klein aantal oranjegele sterk refractiele granula (Plaat III, 4 en 5).

De vorm der acidophiele cellen is meestal polygonaal, de kern is overwegend excentrisch gelegen (Plaat III, 1c). In een aantal gevallen is het protoplasma niet egaal gekorreld, maar beperkt de granulatie zich tot een deel der cel (Plaat III, 1a). In sommige cellen komen vacuolen voor (Plaat III, 9a).

Onder *basophiele cellen* worden alle cellen verstaan, die in het Azanpreparaat blauwe tot paarsblauwe granula bezitten of een protoplasma bezitten, dat zich zo kleurt. Over het algemeen zijn de basophielen kleiner dan de acidophielen. De excentrische ligging der kernen is hier uitzondering. Naast betrekkelijk grote basophiele cellen met relatief weinig granula (Plaat III, 8b), komen kleinere basophiele cellen voor met een dicht gegranuleerd protoplasma (Plaat III, 9b, 8a, 7c). Hierbij is de kern vaak hyperchromatisch (Plaat III, 7a en b) en soms excentrisch gelegen (Plaat III, 6).

De chromophobe cellen vertonen een grijs protoplasma en missen elke granulatie (Plaat III, 1b en 2a). Ze zijn wisselend groot. Het protoplasma is bij deze cellen vaak opvallend gevacuoliseerd. (Plaat III 9c).

Voor het *quantitatieve onderzoek* werden bij 23 vogels, 12 vrouwelijke en 11 mannelijke individuen tellingen verricht zoals aangegeven op blz. 48.

Zoals bij directe beschouwing van de seriecoupes der hypophysen reeds opviel, bestaat er bij alle individuen een rostraal gebied, overwegend gevormd door chromophiele cellen, en een caudaal gebied, waarin de chromophobe cellen sterk overwegen (Plaat IV, 3). Deze gebieden zijn in sommige hypophysen gescheiden door wijde sinussen (Plaat IV, 7).

In het caudale gebied is het aantal chromophiele cellen per gezichtsveld, dat hier bijna uitsluitend kleine basophiele cellen betreft, gering (variërende van 0–12 per gezichtveld). Slechts enkele kleine acidophiele cellen worden hier aangetroffen. Deze zijn te gering in aantal om in percentages van het totaal aantal getelde cellen uit te drukken.

Per individu werd het gemiddelde percentage basophiele cellen in het caudale gebied bepaald, door de som van het aantal getelde cellen te delen door het aantal gedifferentieerde gezichtsvelden. Het gemiddelde percentage basophielen blijkt bij de 23 onderzochte

individuen te variëren van 2–7%. Zoals uit Plaat II, 4, blijkt, is er weinig reden een afhankelijkheid van het jaargetijde aan te nemen.[1]

Van de tellingen in het chromophiele gebied werd het gemiddelde percentage acidophielen, basophielen en chromophoben beschouwd als maat voor het werkelijk percentage van deze cellen in dit gebied. Het cellenaantal, dat wij in deze gebieden per hypophyse telden (118–166 gezichtsvelden per hypophyse met 46-76 cellen (gemiddeld 62)), is groot genoeg om deze getallen een betrouwbaarheid te geven, die vergelijkbaar is met die van de beproefde methode volgens Rasmussen. Over de spreiding van deze percentages bij een groot aantal gelijkslachtige individuen uit eenzelfde jaargetijde, hebben we geen onderzoekingen kunnen verrichten, zodat wij over de individuele spreiding niet geinformeerd zijn. Een positief antwoord op het bestaan van quantitatieve veranderingen in dit gebied zal dus slechts dan verkregen worden, indien gedurende een periode een bepaalde celsoort bij practisch alle individuen in een belangrijk hoger of lager percentage voorkomt dan buiten die periode.

Per gezichtsveld werden in dit rostrale gebied minder cellen geteld dan in het chromophobe gebied (de cellen zijn daar namelijk groter). De aantallen van de verschillende celtypen variëren hierbij sterk. Er komen gezichtsvelden voor met slechts enkele acidophielen en gezichtsvelden, waarbij zeer veel acidophielen aangetroffen worden.

In de smalle randzoom vonden we het overwegen van chromophobe cellen. In het voorste centrale deel komen meestal gezichtsvelden voor die overwegend (tot 70%) uit grote acidophiele cellen bestaan; het aantal getelde cellen in zo'n gezichtsveld is dan laag. Bij bestudering der seriecoupes viel op, dat de verdeling der acidophiele cellen opvallend symmetrisch is; zij komen voor in 2 strengen. De basophielen liggen tussen de acidophielen verspreid en in de meer centrale gebieden. Vaak liggen zij in groepen bijéén.

Wat betreft de *resultaten van het quantitatieve onderzoek*, wordt het percentage acidophielen, basophielen en chromophoben van het totaal aantal getelde cellen in het chromophiele gebied, voor de 23 onderzochte hypophysen in Plaat II, 1, 2 en 3 weergegeven. Zij zijn hier reeds gerangschikt volgens de in de inleiding besproken indeling. Hierbij valt op, dat de hypophysen uit de periode van februari tot medio mei een hoog percentage basophielen bezitten (14–24%) vergeleken met bijna al de hypophysen uit de rest van

[1] Plaat II blz. 20

het jaar. Een uitzondering hierop vormt hypophyse 8. Deze vertoont een hoog percentage basophielen. Het is een uit de 2e helft van mei afkomstig vrouwelijk individu, dat waarschijnlijk wat hypophysebeeld betreft, nog tot de eerste phase gerekend moet worden.

De acidophiele cellen vertonen een sterke variatie; tijdens de eerste periode van 10–46% van het totaal aantal getelde cellen, in de tweede periode van 14–40%. De twee onderzochte individuen uit september, vertonen, vergeleken met de onderzochte individuen uit juli en augustus en ook met de er na komende vijfde phase, een hoog percenage acidophielen.

De chromophobe cellen fluctureren sterk, echter zonder verband met het jaargetijde. Geslachtsverschillen blijken er met de door ons gebruikte criteria niet te bestaan.

Wat betreft de *qualitatieve veranderingen,* hebben we gelet op de grootte der cellen en de aard en dichtheid der granulatie. Bij de basophiele cellen waren gedurende de maanden februari tot mei veel grote basophiele cellen met weinig granulatie aanwezig, in de overige maanden overheersten kleinere ovale of ronde basophielen met een egaalblauw tot zeer dicht gekorreld protoplasma.

De acidophielen bestaan in de maanden januari tot half mei overwegend uit niet opvallend grote, zeer intensief en fijn gegranuleerde cellen (Plaat III, 2). In de tweede helft van mei vonden we bij de onderzochte vrouwelijke individuen grote acidophiele cellen met fijne granula en verder acidophiele cellen met weinig en opvallend grote granula (Plaat III, 4 en 5). In de maanden september zijn de acidophielen klein en opvallend sterk gekleurd. (Plaat III, 3).

De pars tuberalis omvat de gehele hypophysesteel en is opgebouwd uit kleine bleek gekleurde cellen, arm aan cytoplasma. Deze vertonen door de gehele cyclus heen hetzelfde aspect.

Colloid wordt in kleine hoeveelheden door de gehele hypophyse aangetroffen, vaak in aanzienlijke hoeveelheden op de grens van chromophoob en chromophiel gebied. We hebben hierover geen quantitatieve tellingen verricht; de hoeveelheid leek echter niet afhankelijk van jaargetijde en geslacht, vertoont wel sterke fluctuaties bij de onderzochte individuen.

Bij 5 van de onderzochte hypophysen vonden we aan de ventrale zijde der hypophyse, cysten, niet met colloid gevuld en met platte

cellen bekleed, zoals die door Koch (1942) bij de duif en door Oboussier (1948) bij kippen en eenden bescheven zijn. In onze gevallen waren echter geen trilharen aanwezig.

Wanneer we bovenstaande gegevens samenvatten zijn we in staat een antwoord op de eerste twee vragen te geven.

Er komen inderdaad cyclische veranderingen in de hypophyse voor. Wat betreft de basophielen kunnen die in quantitatieve maat uitgedrukt worden. Het hoge percentage der basophielen in de maanden januari tot half mei is zeker betekenisvol. Ook qualitatief wordt in deze tijd bij de basophielen een verandering waargenomen door het overheersen van grote basophielen met weinig granulatie. De acidophielen vertonen slechts qualitatieve veranderingen en wel door de aanwezigheid van grofgekorrelde acidophielen bij vrouwtjes in mei, en het overheersen van kleine acidophielen in september. De chromophoben zijn niet aan cyclische veranderingen onderhevig.

Alvorens de derde vraag, namelijk *in hoeverre de cyclische veranderingen in de hypophyse te correleren zijn met die in het overige endocrinon*, te kunnen beantwoorden, is het noodzakelijk meer en detail op deze laatste in te gaan. Zoals in de inleiding reeds werd opgemerkt bestaan er bij de kokmeeuw duidelijke cyclische veranderingen, welke tot uiting komen in veranderingen in gedrag en verenkleed. Wij hebben bij onze eigen onderzoekingen voornamelijk gelet op de gonaden en de schildklier.

We zullen op grond van eigen waarnemingen en van gegevens uit de literatuur trachten te komen tot een conceptie over de veranderingen in de activiteit der hypophysevoorkwabhormonen gedurende de jaarcyclus.

De cyclische verandering in het ovarium blijkt het duidelijkst uit de grootte der follikels. In Plaat I, 10 wordt de doorsnede van de grootste follikel in verband met de maand van het jaar weergegeven[1]. We zien duidelijk vanaf februari de doorsnede van de grootste follikel toenemen, tot in mei volontwikkelde eieren worden aangetroffen. Daarna neemt de doorsnede weer af. Vanaf augustus zijn de follikels microscopisch klein en wordt geen waarden meer in de grafiek weergegeven.

De testikels, die bij de onderzochte individuen in februari nog betrekkelijk klein zijn, nemen hierna snel in grootte toe. Zij be-

[1] Plaat I blz. 7

reiken in mei en juni hun maximale grootte, om daarna snel te involueren. (Plaat I, 10). Actieve spermatogenese vonden we vanaf maart. In de wintermaanden is de testis een in dit opzicht onontwikkeld orgaan.

Bij de directe bestudering der schildklieren kregen we de indruk, dat hier een verandering in het aspect gedurende het jaar bestond. Het leek ons, dat er in de maanden mei en juni en mogelijk ook in september, kleinere follikels bestonden, dan in de overige maanden. Verder leek het, of speciaal in de maanden maart en april opvallend grote follikels voorkwamen.

Teneinde deze indruk te objectiveren, hebben we gezocht naar maatstaven om een cyclus in de schildklier vast te leggen.

We hebben daartoe de grootte der schildklieren bepaald en ook de grootte der follikels.

De schildklier van de kokmeeuw bestaat uit twee symmetrische lobben. Daarom werd als maat gebruikt het product van de lengte van een lob en van de grootste afmeting loodrecht daarop (in mm). De zo verkregen producten werden per maand in grafiek A (Plaat II, 6) afgezet, de hierbij langs de ordinaat aangegeven eenheid is dit product met de waarde 1. Speciaal wat betreft de vrouwelijke individuen in mei en de twee mannelijke individuen in juni krijgt men de indruk, dat er een kleine schildklier in deze maanden bestaat. Een *duidelijke* cyclus in de grootte der schildklier blijkt uit deze gegevens echter niet.

In grafiek B wordt de gemiddelde doorsnede der follikels volgens blz. 49 bepaald, per maand weergegeven, de hierbij gebruikte eenheid heeft geen absolute betekenis, doch dient om de waarden van deze grafiek onderling, en met die van grafiek C te kunnen vergelijken. In deze grafiek lijkt het of in juni en mogelijk ook in de maand mei de gemiddelde follikelgrootte kleiner is dan in de voorafgaande en volgende maanden.

Wanneer men de grafieken A en B vergelijkt, valt een zekere overeenkomst op. Het lijkt of er over het algemeen een verband bestaat tussen de grootte der schildklier en de gemiddelde follikelgrootte.

In grafiek C, plaat II, 6, hebben wij de maximale follikeldoorsnede per maand aangegeven. De gebruikte eenheid heeft een andere grootte dan die van fig. B. Uit deze grafiek blijkt duidelijk, dat, terwijl er in de maanden maart en april grote follikels aanwezig zijn (maximale follikelgrootte groot), in de maanden mei en juni

grote follikels ontbreken (de maximale follikelgrootte is beduidend kleiner). In de overige maanden komen weer grotere follikels voor, echter niet zo groot als in maart en april.

De indruk, dat ook in augustus en september een schildklier met overwegend kleine follikels voorkomt, hebben we niet duidelijk kunnen objectiveren, met uitzondering misschien bij de vrouwelijke individuen.

De afbeeldingen boven de grafieken, ontleend aan de voor de metingen gebruikte, met het tekenprisma vervaardigde afbeeldingen van de schildklieren geven deze indruk weer.

In alle schildklieren zagen we bij de grote follikels een betrekkelijk laag epitheel; bij de kleinere follikels is het epitheel hoger.

Wanneer we trachten de gegevens betreffende de schildklier samen te vatten, kunnen we zeggen, dat de indruk van een cyclus bestaat. Deze cyclus wordt veroorzaakt doordat in de maanden maart en speciaal april grotere follikels aanwezig zijn. In mei en juni zijn de follikels over het algemeen meer uniform van grootte en kleiner. In de overige maanden is de spreiding in follikeldoorsnede weer groter, waarbij bij de vrouwtjes uit augustus en september de neiging tot een meer uniforme, betrekkelijk kleine follikeldoorsnede bestaat.

De aanwezigheid van grote follikels heeft uiteraard de neiging, de gemiddelde follikeldoorsnede te beinvloeden, terwijl de indruk bestaat dat ook de totale thyreoidgrootte erdoor beinvloed wordt.

We zullen nu trachten met behulp van bovenstaande waarnemingen en gesteund door gegevens uit de literatuur, te komen tot een verwachting betreffende de veranderingen in de „trope" activiteit der hypophyse gedurende de in de inleiding genoemde perioden. Deze verwachtingen zijn deels gegrondvest op analogieën bij de duif, zoals deze blijken uit de publicaties van Schooley en Riddle (1938) en Koch (1942).

De gonadotropine - activiteit is het hoogst te verwachten in de eerste periode (januari tot half mei). In dit tijdvak groeien de gonaden.

Bij de kokmeeuw zouden we naar analogie van de opvattingen van Schooley en Riddle (1938) en Koch (1942) bij de duif, tijdens het voederen der jongen, dat is in de tweede periode, een verhoogde prolactine-activiteit kunnen aannemen.

Voor het bestaan van een verhoogde thyreotrope activiteit komen, volgens de literatuur twee phasen in aanmerking. Koch (1942) en Elterich (1936) vonden bij vrouwelijke individuen (duif) een verhoogde schildklieractiviteit tijdens het broeden en voederen der jongen. Ook in de ruiperiode werden bij de vrouwtjes tekenen van verhoogde schildklieractiviteit gevonden.

In mei en juni zouden onze waarnemingen aan de schildklier van de kokmeeuw kunnen wijzen op een verhoogde schildklieractiviteit. In het algemeen worden kleine follikels met hoog epitheel, zoals deze in deze maanden voorkomen, als activiteitsverschijnsel opgevat. Voor een verhoogde schildklieractiviteit in de ruiperiode (augustus, september) zijn in ons materiaal geen bewijzen te vinden; de schildklierbeelden bij de vrouwelijke individuen zouden echter wel in overeenstemming met de literatuur zo geduid kunnen worden.

De verwachtingen in de activiteit der hypophysehormonen worden in Plaat II, 5 schematisch weergegeven.

Het is nu de vraag of wij deze wisselingen in hormoonactiviteit in overeenstemming kunnen brengen met de veranderingen in de hypophyse, die we bij de beantwoording van de eerste twee vragen zijn tegengekomen.

De hoge *gonadotropine-activiteit* in de eerste phase kunnen wij correleren met het hoge percentage basophielen in deze phase. Het overheersen van grote basophielen met weinig granulatie zou in overeenstemming met de literatuur (Severinghaus 1937, Schooley en Riddle 1938) als teken van secretie-activiteit kunnen worden opgevat.

Het *prolactine* zou in de eosinophiele cellen geproduceerd worden (Schooley en Riddle 1938). Quantitatieve aanwijzingen hiervoor in de tweede periode, in de zin van een verhoogd percentage acidophielen, blijken uit onze waarnemingen niet. De qualitatieve veranderingen in het aspect der acidophielen in een deel van deze periode, namelijk in de tweede helft van mei zouden met de prolactineproductie in verband gebracht kunnen worden. Bij de vogels in deze periode zagen we namelijk dat veel acidophielen weinig gegranuleerd en groot waren, terwijl bij de vrouwelijke individuen veel grof gekorrelde cellen voorkwamen.

De productie van het *thyreotrope hormoon* bij zoogdieren wordt meestal in de basophiele cellen gelocaliseerd, bij de vogels heerst

hierover blijkens de literatuur tot in de recente publicaties geen overeenstemming.

Bij de duif meent Koch (1942) op grond van de verhoogde schildklieractiviteit in de rui en het overheersen van acidophiele cellen in die periode, dat deze cellen het thyreotroop hormoon produceren. Het overheersen van eosinophiele cellen in deze periode bij de merel, zoals dat door Schildmacher (1937) werd gevonden, zouden we ook door verhoogde thyreotropineproductie kunnen verklaren.

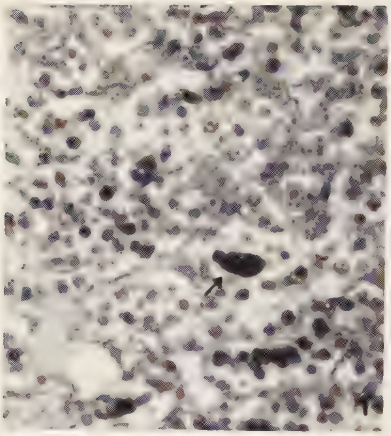
Bij kippen meent Morris (1952) de acidophiele cellen als producenten van thyreotroop hormoon te kunnen beschouwen. Legait (1954, 1955) en Tixier - Vidal (1954, 1955) menen echter de thyrotropine-activiteit bij de kip in de basophiele cellen te moeten localiseren.

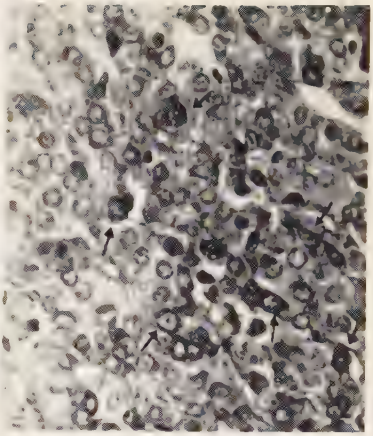
Bij ons eigen materiaal is een verhoogde thyreotropine-activiteit in juni niet te correleren met een hoog percentage acidophiele cellen. Duidelijk cyclische veranderingen in de quantiteit der acidophiele cellen werden immers niet aangetroffen. De hoge percentages acidophiele cellen bij het vrouwelijk en het mannelijk individu in september zijn ook niet met een verhoogde thyreotropineproductie in overeenstemming te brengen, daar immers slechts voor het vrouwelijk individu een aanduiding van een verhoogde schildklierfunctie bestond. Ook de quantitatieve veranderingen in de acidophielen zijn niet met een toename in de schildklieractiviteit te correleren. De veranderingen bij de vrouwtjes in mei, welke in overeenstemming met een verhoogde prolactine uitscheiding zouden kunnen zijn, zouden wij dan ook bij de mannelijke individuen in die periode en eventueel bij de vrouwelijke individuen in augustus en september moeten kunnen waarnemen. Dit is echter niet het geval.

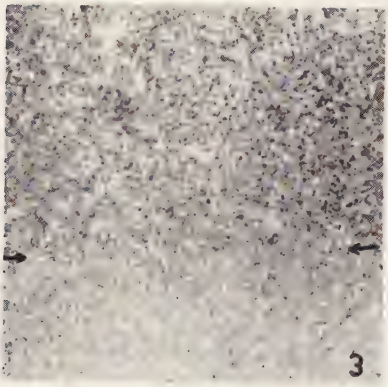
Ook quantitatieve of qualitatieve veranderingen in de basophiele cellen zijn niet met een verhoogde schildklieractiviteit te correleren.

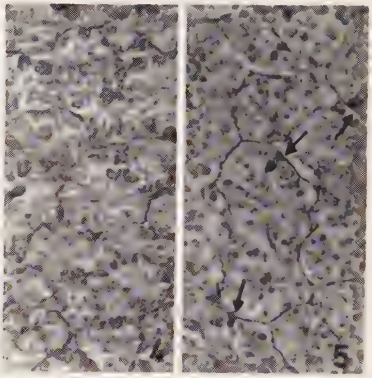
Samengevat blijkt uit bovenstaande waarnemingen en beschouwingen dus dat de derde vraag voor een deel in positieve zin te beantwoorden is.

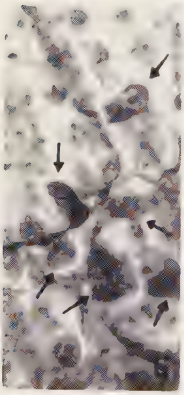
De quantitatieve en qualitatieve veranderingen in de basophiele cellen in de eerste periode, zoals deze op resp. blz. 52 en blz. 53 beschreven zijn, kunnen gecorreleerd worden met een verhoogde productie van gonadotropine. Dat is in overeenstemming met de literatuur. De qualitatieve veranderingen in de acidophielen in mei, zoals deze op blz. 53 beschreven zijn, zijn in overeenstemming te

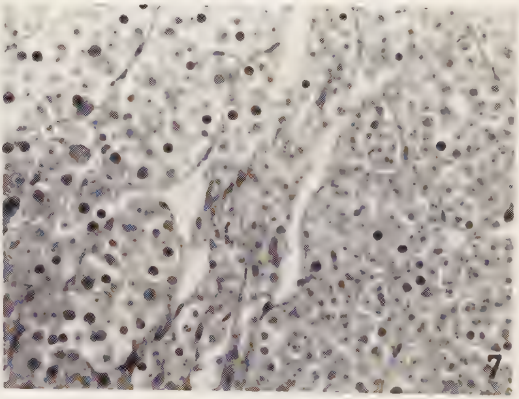





3


4
5




7

brengen met de productie van prolactine, zoals dit naar analogie bij de duif te verwachten is.

De veranderingen in de thyreotrope activiteit, waarvoor in de schildklier aanwijzingen werden gevonden kunnen niet met quantitatieve of qualitatieve veranderingen in de hypophyse gecorreleerd worden.

Tenslotte hebben we getracht de laatste vragen te beantwoorden, namelijk of er P.A.S.-positieve cellen en aldehydfuchsine-positieve cellen bij de kokmeeuw voorkomen en hoe de verhouding t.o.v. de celtypen gevonden met de Azankleuring is. We maakten hiervoor gebruik van de volgens op blz. 49 aangegeven wijze vervaardigde series. Allereerst zullen we de resultaten van de onderzoekingen met de aldehydefuchsine-kleuring bespreken.

Aangezien deze kleuring bij een inleidend onderzoek een negatief resultaat opleverde, meenden we bij de definitieve series, die voor dit onderzoek gebruikt werden een controle te moeten inschakelen, teneinde technische fouten te vermijden. We gebruikten daartoe hypophysen van jonge ratten (8 dagen oud). Ook deze hypophysen waren in de vloeistof volgens Bouin Hollande gefixeerd en in paraffine ingebed. In het kleurbakje, waarin de kokmeeuwhypophysen werden gekleurd, werd een coupe van een rattenhypophyse meegekleurd. Indien in de rattenhypophyse duidelijk grote cellen met aldehydfuchsine-positieve granula aanwezig waren, zoals die door Halmi beschreven zijn (Plaat IV, 2), besloten we hieruit, dat de kleuring in technisch opzicht gelukt was.

PLAAT IV

1. Kokmeeuwhypophyse gekleurd volgens Gomori. Colloid sterk positief. (oculair 10× objectief 40×).
2. Rattenhypophyse gekleurd volgens Gomori. Aldehydfuchsine-positieve cellen (oculair 10× objectief 40×)
3. Grens tussen chromophiel en chromophoob gebied (oculair 10× objectief 10×).
4. P. A. S.-cellen in chromophiel gebied (combinatie kleuring volgens Van Duijn) (oculair 10× objectief 40×).
5. P.A.S.-cellen in chromophoob gebied (als 4).
6. P.A.S.-cellen (combinatiekleuring volgens Van Duijn). (oculair 10×, objectief 100× (olieimmersie).
7. Wijde sinussen tussen chromophiel en chromophoob gebied (oculair 10×, objectief 40×).

In de kokmeeuwhypophysen kleurde het colloid zich plaatselijk sterk met aldehydfuchsine (Plaat IV, 1). Er werden in de kokmeeuwhypophysen echter geen met de in de rattenhypophyse vergelijkbare aldehydfuchsine-positieve cellen aangetroffen. Wel werden in enkele kleine cellen, voornamelijk in het chromophobe gebied, enkele paarse korrels aangetroffen. Het was niet mogelijk uit te maken of deze cellen overeenkwamen met de basophielen of met de chromophoben in het Azanpraeparaat. Zeker worden deze cellen met aldehydfuchsine - positief materiaal in aantal sterk overtroffen door de basophielen in het Azanpreparaat; dit in tegenstelling tot de waarneming van Siegel (1955), die bij de vleermuis de met anilineblauw kleurende cellen identiek vond met de aldehydfuchsine-positieve.

Mogelijk bestaan er dus bij de kokmeeuw geen met de zoogdieren vergelijkbare aldehydfuchsine-positieve cellen, al komen enkele cellen met spaarzame granula voor. Deze waarnemingen zouden in overeenstemming kunnen zijn met die van Tixier-Vidal (1954), die tijdens de cytogenese der hypophyse bij de kip, wanneer reeds duidelijke basophiele cellen in het Azanpreparaat aanwezig zijn, slechts enkele cellen met een gering aantal aldehydfuchsine - positieve partikeltjes vindt.

Onder P.A.S.-cellen zullen we verstaan de cellen, die in het protoplasma bij één van de modificaties van de perjoodzuur-Schiff-kleuring rose of rood materiaal bevatten. Deze kleuring heeft zoals bekend een histochemische basis. Door ons werden gebruikt de methode van Pearce (1949); een P.A.S.-kleuring, met haematoxyline tegengekleurd; en een z.g. „combinatiekleuring" volgens Van Duijn (1956).

Bij de eerste methode bestaat het voordeel, dat men de acidophiele cellen ook zichtbaar maakt door de tegenkleuring. De P.A.S.-haematoxylinekleuring geeft de minst fraaie resultaten; door de haematoxyline treden mengkleuren op, die een differentiatie bemoeilijken. Bij de „combinatiekleuring" krijgt men de P.A.S.-positieve cellen het ongecompliceerdst te zien.

De hieronder volgende beschrijving der P.A.S.-cellen is aan de bestudering der hypophysen met alle drie de methoden ontleend. De P.A.S.-positieve cellen zijn wisselend van grootte en vorm. Verder wisselt ook de aard en de intensiteit van de P.A.S.-positiviteit (Plaat IV, 4, 5 en 6). Naast cellen met een min of meer licht of

donkerrood gekleurd protoplasma komen cellen met veel of weinig P.A.S.-positieve granula voor. Ook bevatten egaal gekleurde cellen soms enkele sterker P.A.S.-positieve korrels.

In het chromophiele gebied zijn de P.A.S.-positieve cellen over het algemeen groter dan in het chromophobe gebied. In het algemeen ligt de kern centraal, er komen echter ook P.A.S.-positieve cellen met excentrische kern voor (Plaat IV, 4). Soms is een kern nauwelijks te herkennen. De vorm is wisselend, naast ronde en ovale cellen komen ook meer hoekige voor.

De algemene indruk is, dat de P.A.S.-cellen wat de vorm en localisatie betreft met de basophiele cellen overeenkomen. Het maakt de indruk, dat het aantal, dat der basophielen overtreft.

Ook bij tellingen blijkt dit het geval te zijn. In 20 gezichtsvelden met de olie-immersie geteld, worden 170 basophielen tegen 206 P.A.S.-positieve cellen geteld. In dit opzicht komen onze waarnemingen dus overeen met die van Pearce, Cassarini en Siegel.

Samengevat luidt het antwoord op de drie laatste vragen:

Er bestaan inderdaad P.A.S.-positieve cellen bij de kokmeeuw. Met de zoogdieren vergelijkbare aldehydfuchsine-positieve cellen hebben wij bij onze technieken echter niet gevonden, wel werd een klein aantal cellen met enkele positieve granula aangetroffen.

De P.A.S.-cellen tenslotte zijn voor het merendeel identiek met de basophielen; deze worden in aantal echter door de P.A.S.-cellen overtroffen.

SLOTBESCHOUWING

De ontwikkeling en structuur der hypophyse bij de kokmeeuw laten zich in grote lijnen inpassen in het beeld, dat men zich over de ontwikkeling en structuur bij de vertebraten in het algemeen gevormd heeft. Er bestaan echter zowel voor de hypophyse bij de vertebraten in het algemeen, als voor de vogelhypophyse in het bijzonder, talrijke problemen, waarover uitgebreide onderzoekingen nodig zijn om ze tot een oplossing te brengen. Op enkele hiervan willen wij in deze slotbeschouwing nader ingaan.

Zoals in de hoofdstukken II, III en IV bleek, heerst er in de literatuur grote verwarring over de nomenclatuur van de cellen in de hypophyse, het aantal celsoorten, de identiteit der celsoorten met verschillende methoden gevonden en andere punten betreffende de hypophyse cellen. De productieplaats der hypophysehormonen is voor enkele hormonen niet met zekerheid bekend. Ook over het voorkomen der celsoorten bij verschillende species heerst geen éénstemmigheid. Begrijpelijk is, dat bij een dergelijke verwarring verschillende theorieën opgesteld kunnen worden over de onderlinge betrekkingen der verschillende celsoorten. De nieuwe kleurmethoden, de aldehydfuchsine- en de P.A.S.-methode hebben de moeilijkheden niet verkleind, doch eerder vergroot.

Naast het aanvullen der incidentele gegevens, hetgeen de opzet van deze studie was, zal men bij de studie der hypophyse langzamerhand moeten trachten tot een synthese te komen. Een eerste poging in die richting is ondernomen door Landing (1954), die de verschillende methodieken en mogelijkheden ter bestudering van de hypophyse uit de literatuur heeft trachten samen te vatten. Een dergelijke samenvatting heeft het nut, dat men zich over de mogelijkheden, die er bestaan om de hypophyse te bestuderen, kan orienteren.

Tot een samenvatting over de cytologie en cytophysiologie der

hypophyse op grond van literatuurstudie kan men echter moeilijk komen, omdat het materiaal, dat samengevat moet worden te heterogeen is. Het is niet bekend of verschillen en overeenkomsten wezenlijk zijn, of door methodiek of anderszins tot stand zijn gekomen. De enige manier om tot een inzicht over een grondplan der cytogenese, cytologie en cytophysiologie van de hypophyse bij vertebraten te komen, zou zijn een vergelijkende studie met constante cytologische en histochemische technieken, aangevuld met bij de verschillende te gebruiken species vergelijkbare experimentele onderzoekingen naar de hormoonactiviteit der hypophyse en de cytologische aspecten van een hormonale beinvloeding der hypophyse. Hierbij zal nauwkeurig gelet moeten worden op b.v. de pH. van fixativa en kleurstofoplossingen, fixatie- en kleurtijden en dergelijke. Eerst dan zal het mogelijk zijn de talrijke publicaties op hun juiste waarde te schatten.

Onze bevindingen bij de bestudering van de ontwikkeling der celsoorten in de hypophyse komen overeen met die van Schooley en Riddle (1938), Koch (1942) en Payne (1946) (zie blz. 14). Ook deze auteurs vonden de eerste acidophiele cellen optreden bij de oudere embryonen, terwijl het merendeel der chromophiele cellen eerst geruime tijd na de geboorte ontstaat. Deze auteurs gebruikten eveneens de meer orthodoxe kleurmethoden.

Het niet kleuren met deze methodieken betekent overigens niet, dat geen hormonale activiteit aanwezig zou zijn. Transplantatieproeven met embryonale hypophysen hebben bijvoorbeeld aangetoond, dat bij kippenembryonen reeds vroeg hormoonactiviteit aanwezig is (Studitskii 1946). Gaillard (1937) kon in weefselcultures aantonen, dat konijnen hypophysen na 20–30 dagen kweken nog groeihormoon produceerden, al bevatten de cultures nog slechts „chromophobe" cellen.

Met andere technieken is het mogelijk eerder in de ontwikkeling chromophiele cellen aan te tonen (Wilson 1949, 1952, Tixier-Vidal 1954). Deze laatste auteur beschrijft echter ook met orthodox-histologische technieken reeds eerder in de ontwikkeling chromophiele cellen. Mogelijk heeft het door ons gebruikte fixatiemiddel (Bouin-Hollande) hier ongunstig gewerkt.

Een vergelijkend onderzoek tussen orthodoxe histologische en moderne histochemische methoden, in combinatie met het experimenteel aantonen van hormoonactiviteit, gedurende de ontwikke-

ling bij een aantal species, behoort tot de wenselijke onderzoekingen. Een dergelijk onderzoek zou in belangrijke mate bijdragen tot een inzicht van het grondplan der cytogenese bij de vertebraten. Voor een dergelijk onderzoek lijkt de weefselkweek zeer geschikt; men zou bijvoorbeeld de hypophyse in een reeks embryologische stadia op hormoonactiviteit kunnen testen in vivo, daarbij de hypophyse steeds met histologische en histochemische methodieken bestuderend.

Door het ontbreken van de pars intermedia neemt de vogelhypophyse een bijzondere plaats in de rij der vertebraten in. In dit verband wijzen wij op de rol, die o.i. het bindweefsel hierbij speelt, door verhindering van het intieme contact tussen voor- en achterkwab. Ook deze hypothese vraagt om een experimentele bevestiging, bijvoorbeeld door het samenkweken van voor- en achterkwabweefsel van vogelhypophysen in analogie met de experimenten met konijnenweefsel door Gaillard (1937).

Hoewel dus geen pars intermedia bij vogels aanwezig is, wordt het hormoon, in het algemeen door dit deel der hypophyse gevormd, wel geproduceerd. De vraag rijst dus waar dit hormoon bij vogels gevormd wordt. De „pars tuberalis", bij vogels tamelijk sterk ontwikkeld, lijkt in structuur, ook bij larus ridibundus niet op de pars intermedia, door het ontbreken van colloid en gedifferentieerde cellen. Kleinholz en Rahn (1940) vonden, dat bij vogels het intermedine in de pars posterior ontbreekt, en in de pars anterior aanwezig is. Onze eigen ervaring is, dat bij scheiding van pars anterior en pars posterior de partes tuberales bijna steeds aan de pars posterior gehecht blijven. Een ontstaan in de partes tuberales is dus niet waarschijnlijk. Wanneer we nu aannemen, dat het intermedine bij vogels in de pars anterior gemaakt wordt, vraagt men zich ook hier af, waar?

Bij de kokmeeuw vonden wij in de pars anterior duidelijk twee gebieden, een voorste chromophiel gebied, een achterste chromophoob gebied. Een dergelijke verdeling werd ook gezien bij de duif (Koch 1942) en de kip (Atwell 1939; Rahn 1939; Payne 1942a, b, 1946; Wilson 1950, 1952, Legait 1954). De mogelijkheid bestaat, dat deze indeling in twee gebieden gezien moet worden als analogon van de verdeling pars anterior – pars intermedia, bij andere vertebraten. Deze hypothese zou experimenteel bevestigd kunnen worden, door het voorste en het achterste deel

van de pars anterior afzonderlijk op intermedine-activiteit te onderzoeken.

Tot slot willen wij nog enkele woorden aan de localisatie van de productie van het thyreotrope hormoon wijden. Uit onze onderzoekingen werd niet duidelijk waar deze in de hypophyse gelocaliseerd moet worden. Bij de mammalia wordt de thyreotrope activiteit in het algemeen in verband gebracht met de basophielen en wel met die cellen, die zich met aldehydfuchsine kleuren. Bij de kip wordt door sommige auteurs ook de localisatie in de basophielen aangenomen. Andere auteurs namen zoals we zagen zelfs in recente publicaties de thyreotropine productie in de eosinophiele cellen aan. Indien deze laatste localisatie de juiste is, zouden de vogels in dit opzicht een bijzonder plaats innemen t.o.v. de mammalia. Het ontbreken van, met de bij de rat voorkomende vergelijkbare aldehydfuchsine-positieve cellen, zou met een localisatie in de eosinophielen in verband gebracht kunnen worden.

Ook dit probleem leent zich voor bestudering bij enkele species, waarbij ook hier een combinatie van experimenteel onderzoek en een vergelijking van histologische en histochemische kleurmethoden onder nauwkeurig gecontroleerde omstandigheden de oplossing zal moeten brengen.

SAMENVATTING

In het eerste hoofdstuk wordt de embryologie der hypophyse bij de kokmeeuw besproken aan de hand van een serie embryonen. In grote lijnen blijkt deze overeen te komen met de opvattingen, die men zich hierover bij de vertebraten in het algemeen heeft gemaakt. Speciale aandacht wordt besteed aan het ontbreken van de pars intermedia en de ontwikkeling der partes tuberales.

In het tweede hoofdstuk wordt uit de literatuur een overzicht van de verschillende tegenstrijdige opvattingen over de cytologie der hypophyse in het algemeen gegeven. De oorzaken van deze tegenstrijdigheden worden opgespoord. Ook wordt de literatuur over de cytologie der vogelhypophyse besproken. Aan het slot van dit hoofdstuk worden de celtypen, die bij de eigen quantitatieve onderzoekingen onderscheiden zijn, vermeld.

In het derde hoofdstuk worden uit de literatuur kort de verschillende opvattingen, die over de onderlinge betrekkingen der celsoorten in de hypophyse bestaan, besproken. Daarna worden de veranderingen in het hypophysebeeld besproken, waarbij uitvoerig op de cyclische veranderingen gedurende het jaargetijde, speciaal bij de vogels, wordt ingegaan.

In het vierde hoofdstuk worden de opvattingen over de localisatie der productie van de verschillende hypophysehormonen tegenover elkaar gezet. Ook hier blijkt een grote tegenstrijdigheid. Speciaal wordt aandacht besteed aan de resultaten in de literatuur met de P.A.S.-kleuring en de kleuring volgens Gomori bereikt. Aan het slot wordt een vraagstelling gegeven ten aanzien van de studie der hypophyse bij de kokmeeuw (blz. 40).

In het vijfde hoofdstuk worden de quantitatieve en qualitatieve onderzoekingen van de cytologie der hypophyse, en de resultaten hiervan, besproken. Het blijkt, dat zowel quantitatieve als quali-

tatieve veranderingen in de basophiele cellen gedurende de jaarcyclus voorkomen. Hierbij wordt een indeling in vijf phasen aangenomen, zoals die in de inleiding wordt besproken (blz. 3). Betreffende de acidophielen werden slechts qualitatieve veranderingen in de hypophyse aangetroffen. Getracht wordt een correlatie tussen de veranderingen in de hypophyse en de eveneens bestudeerde veranderingen in het vorige endocrinon te vinden. Hierbij blijkt, een duidelijke correlatie tussen veranderingen in aantal en aspect der basophielen cellen en de gonadotropine-productie, een mogelijke correlatie tussen qualitatieve veranderingen in de acidophiele cellen en de prolactine-productie, terwijl de veranderingen in de productie van het thyreotrope hormoon niet met veranderingen in de hypophyse te correleren zijn. Verder blijken geen bij zoogdieren vergelijkbare aldehydfuchsine - positieve cellen in de hypophyse bij de kokmeeuw voor te komen.

P.A.S. cellen worden wel aangetroffen; zij overtreffen de basophiele cellen gevonden met de Azankleuring in aantal.

In de slotbeschouwing wordt aan de hand van eigen waarnemingen en literatuurstudie dieper op enkele bestaande problemen betreffende de hypophyse in het algemeen, en de hypophyse bij vogels in het bijzonder, ingegaan.

LITERATUUR

Abolins, L. and Abolins, A. (1948) - Nature, **161**, 556.
Abolins, L. and Abolins, A. (1949) - Nature, **164**, 455.
Alare, R. (1953) - Ref. Ex. Med. III, **8**, 211.
Atwell, W. J. and Sittler, I. (1918) - Anat. Rec., **15**, 181.
Atwell, W. J. (1939) - Anat. Rec., **73**, 57.
Baraknikova, I. A. (1950) - Ref. Ex. Med. III, **4**, 1213.
Bailey, P. and Davidoff, L. M. (1925) - Am. J. Path., **1**, 185.
Beer, G. R. de, (1926) - The comparative anatomy, histology and development of the pituitary body. Edinburgh, London.
Benda, C. (1900) Arch. f. Physiol., 373.
Benoit, G. W. (1932) - Abderhalden, Handbuch der Biologischen Arbeitsmethoden, **8**, 1557.
Briseno-Castrejon, B. and Finerty, J. C. (1949) - Stain Techn., **24**, 103.
Brolin, S. E. (1946) - Acta Anat., **2** suppl. III, 1.
Berblinger, W. and Burgdorf, A. L. (1935) - Endokrinologie, **15**, 381.
Burt, A. S. and Castleman, B. (1953) - Cancer, **6**, 236.
Burt, A. S. c.s. (1954) - Cancer Research, **14**, 497.
Burt-Russfield, A. S. (1957) - Chapter V in Mellors R. C., Analytical Pathology, New York.
Calapà, F. (1953) - G. Obstet. Ginec., **17**, 10.
Cassarini, R., and Rossi, V. (1953) - Ref. Ex. Med. III, **9**, 3.
Catchpole, H. R. (1947) - Federation Proc., **6**, 88.
Catchpole, H. R. (1949) - J. Endocrin., **6**, 218.
Cleveland, R., and Wolfe, J. M. (1933) - Am. J. Anat., **53**, 191.
Collin, R. (1933) - L'hypophyse, Nancy.
Colombo, E. (1949) - Ref. Ex. Med. III, **4**, 498.
Columbi, C. (1934) - Ber. 5 Welt. Geflügelkongr. Rome, **2**, 401.
Cowdry, E. V. (1948) - Laboratory technique in Biology and Medicine, Baltimore.
Dawson, A. B. (1946) - Am. J. Anat., **78**, 347.
Desclaux, P. et Soulairac, A. (1952) - Ann. Endocrin., **13**, 624.
Desogus, V. (1926) - Mon. Zoöl. Ital., **37**, 273.
Dursy, von (1869) - Zur Entwicklungsgeschichte des Kopfes geciteerd in Romeis (1940).
Duijn, van, P. (1956) - J. Histochem. and Cytochem. **4**, 55.

Economo, C. J. (1899) - Sitzgsber. Akad. Wiss. Wien., Math. Naturwiss. Kl., **108**, 281.
(1904) - idem, **113**, 537.
Elterich, Ch. F. (1936) - Endokrinologie, **18**, 31.
Fichera, G. (1905) - Arch. ital. de Biol. **43**, 415.
Friedgood, H. and Dawson, A.B. (1940) - Endocrinology, **26**, 1022.
Friedmann, B. (1934) - J. Morph. a. Physiol., **55**, 611.
Gaillard, P. J. (1937) (a) - Protoplasma, **28**, 1.
Gaillard, P. J. (1937) (b) - Acta Neerl. Morph. norm. et path., **1**, 3.
Gemelli, J. (1907) - Geciteerd door Romeis, (1940).
Gilbert, M. S. (1934) - Am. J. Anat., **54**, 287.
Giroud, A., et Martinet, M. (1948) - C.R. Soc. Biol., **142**, 734.
Giroud, A. (1952) - C.R. Ass. Anat. **68**, 540.
Goldberg, R. C. and Chaikoff, I. L. (1950) - Endocrinology, **46**, 91.
Gomori, G. ((1950) - Am. J. Clin. Path., **20**, 665.
Greep, Roy O. (1954) - Histology; edited by Roy O. Greep, New York.
Halmi, N.S. (1950) - Endocrinology, **47**, 289.
Halmi, N.S. (1951) - Anat. Rec., **109**, 300.
Halmi, N.S. (1952) (a) - Stain Techn., **27**, 61.
Halmi, N.S. (1952) (b) - Endocrinology, **50**, 140.
Hartmann, J. F., Fain, W. R. and Wolve, G. M. (1946) - Anat. Rec. **95**, 11.
Hegre, E. S. (1946) - J. Exp. Zool., **101**, 65.
Herlant, M. (1942) - Bull. Ac. Roy. Sci., **28**, 588.
Herlant, M. (1943) - Arch. de Biol., **54**, 225.
Herlant, M. (1949) - Nature, **164**, 703.
Herlant, M. (1950) - Ann. Endocrin., **11**, 644.
Herlant, M. (1952) (a) - Ann. Endocrin., **13**, 611.
Herlant, M. (1952) (b) - C.R. Soc. Biol., **146**, 1280.
Herlant, M. (1952) (c) - Ann. Endocrin., **13**, 80.
Hochstetter, F. (1924) - Beiträge zur Entwicklungsgeschichte des menschliches Gehirns. II. Teil, 2 lief. Die Entwicklung des Hirnanhanges, Wien, Leipzig.
Hotchkiss, R. D. (1948) - Arch. Biochem., **16**, 131.
Jost, A. and Gonse, P. (1953) - Arch. Anat. Micr. et Morph. exp., **42**, 243.
Kingsbury, B. F. and Adelmann, H. B. (1924) - Quart. J. microsc. Sci., **68**, 239.
Kleinholz, L. H. and Rahn, H. (1940) - Anat. Rec., **76**, 157.
Koch, W. (1942) - Arch. f. Gynäk., **172**, 1.
Kraus, E. J. (1926) - Handbuch der Pathologie herausgeg. von Henke u. Lubarsch, **8**, 810.
Lacour, F. (1950) - C. R. Soc. Biol., **144**, 248.
Ladman, A. J. and Barnett, R. J. (1954) - Endocrinology, **54**, 355.
Landing, B. H. (1954) - Lab., Invest., **3**, 348.
Legait, E. et Legait, H. (1954) - C. R. Soc. Biol., **148**, 147.
Legait, E. et Legait, H. (1955) - C. R. Ass. Anat., **84**, 188.
Lillie, F. R. (1930) - The development of the Chick, New York.
Lups, T. (1929) - Anat. Anz., **67**, 161.

Mancini, R. E. and Dosne de Pasqualini, C. (1950) - Rev. Soc. argent. Biol., **26**, 299.
Mancini, R. E. and Dosne de Pasqualini, C. (1950) - Rev. Soc. argent. Biol., **26**, 305.
Marshall, J. M. (1951) - J. Exp. Med., **94**, 21.
Mazzen, V. D. and Blinov, A. V. (1936) - geciteerd door Koch (1942).
Mc. Letchie, N. G. B. (1944) - J. Endocrinol., **3**, 323.
Mc. Manus, J. F. A. (1946) - Nature, **158**, 202.
Mc. Manus, J. F. A. (1948) - (a) Am. J. Path., **24**, 643.
Mc. Manus, J. F. A. (1948) (b) - Stain Techn., **23**, 99.
Mellgren, J. (1948) - Acta Path. Microbiol. Scand., **25**, 284.
Morris, D. M. (1952) - Endocrinology, **50**, 277.
Müller, W. (1871) - Jenaische Zeitschr. f. Med. u. Naturwiss., **6**, 354.
Oboussier, H. (1948) - W. Roux Arch. f. Entwicklungsmechanik, **143**, 182.
Oordt, G. J. v. and Junge, G. C. A. (1933) - W. Roux Arch. f. Entwicklungsmechanik, **128**, 166.
Pali.K etLajos, L. (1952) - Gynaecologia (Basel), **133**, 37.
Payne, F. (1942) (a) - Anat. Rec., **84**, Abstr. 75.
Payne, F. (1942) (b) - Biol. Bull., **82**, 79.
Payne, F. (1943) - Anat. Rec. ,**86**, 1.
Payne, F. (1944) - Anat. Rec., **88**, 337.
Payne, F. (1946) - Anat. Rec., **96**, 77.
Payne, F. (1949) - J. gerontol., **4**, 193.
Pearse, A. G. E. (1949) - J. Path. Bact., **61**, 195.
Pearse, A. G. E. (1950) - Stain Techn., **25**, 95.
Pearse, A. G. E. (1952) - J. Path. Bact., **64**, 791 and 811.
Pearse, A. G. E. (1953) - J. Path. Bact., **65**, 355.
Podhradsky, J. (1935) - Z. Züchtg., **33**, 77.
Pokorny, F. (1926) - Z. Anat., **78**, 308.
Purves, H. D. and Griesbach, W. E. (1951) (a) - Endocrinology, **49**, 244.
Purves, H. D. and Griesbach, W. E. (1951) (b) - Endocrinology, **49**, 427.
Purves, H. D. and Griesbach, W. E. (1951) (c) - Endocrinology, **49**, 652.
Racadot, J. (1949) (a) - C.R. Soc. Biol., **143**, 422.
Racadot, J. (1949) (b) - Cytogenèse de la glande pituitaire chez quelques mammifères. Thesis, Nancy.
Rahn, H. (1938) - Anat. Rec., **70**, 64.
Rahn, H. (1939) - J. Morphol., **64**, 483.
Rahn, H. and Painter, B. T. (1941) - Anat. Rec., **79**, 297.
Rasmussen, A.T. (1929) - Am. J. Path., **5**, 263.
Rennels, E. G. (1953) - Anat. Rec., **115**, 659.
Rinehart, J. E. and Farquhar, M. G. (1953) - J. histochem. and cytochem., **1**, 93.
Rodriguez, H. (1937) - Endokrinologie, **19**, 151.
Romeis, B. J. (1940) - Handbuch der Mikrosk. Anat. des Menschen. bd. VI, 3, Berlin.

Rossi, V. (1896) - Monit. Zool., Ital., **7**, 240.
Rost, H. (1939) - Z. Zool., **152**, 221.
Ruyter, J. (1943) - Acta Neerl. Morph., **5**, 180.
Schildmacher, H. (1937) - J. Ornith., **85**, 587.
Schooley, J. G. and Riddle, O. (1936) - Anat. Rec., **64**, 42.
Schooley, J. G. and Riddle, O. (1938) - Amer. J. Anat., **62**, 313.
Schönemann, A. (1892) - Virchows Arch., **129**, 310.
Severinghaus, A. E. (1933) - Anat. Rec., **57**, 149.
Severinghaus, A. E. (1937) - Physiol. Rev., **17**, 556.
Siegel, J. H. (1955) - J. Morphol., **96**, 223.
Soos, J. v. (1934) - Frankf. Zsch. Path., **47**, 82.
Stendell, W. (1913) - Anat. Anz., **45**, 406.
Studitskii, A. (1946) - Nature, **157**, 427.
Thom, W. (1901) - Arch. Mikr. Anat., **57**, 632.
Tilney, E. (1911) - Mem. of Wistar Instit. Anal. Biol., **2**, 1.
Tilney, E. (1913) - Internat. Monatschr. Anat. Physiol., **30**, 258.
Tinelli, I. (1954) - Ref. Ex. Med. III, **8**, 214.
Tixier - Vidal, A. (1954) - Arch. Anat. Micr. et Morph. exp., **43**, 163.
Tixier - Vidal, A. (1955) - C.R. Soc. Biol., **149**, 1377.
Tuchmann - Duplessis, H. (1951) - Ann. Endocrinol., **12**, 742.
Wilson, M. E. (1949) - Anat. Rec., **103**, 521.
Wilson, M. E. (1952) - Amer. J. Anat., **91**, 1.
Woerdeman, M. W. (1914). Arch. f. mikrosk. Anat., **86**, 198.
Wolfe, J. M.; Cleveland, R. and Campbell, M. (1933) - Z. Zellforsch., **17**, 420.
Wolfe, J. M. and Cleveland, R. (1933) - Anat. Rec., **55**, 233.
Wolfe, J. M. (1935) - Anat. Rec., **61**, 321.

STELLINGEN

I

De tegenstrijdigheden in de literatuur betreffende de cytologie der hypophyse bij vertebraten zijn voor een deel te wijten aan het toepassen van onvergelijkbare technieken.

II

Voor het meten van de sederende werking van „tranquilizers" is nog geen juiste dierproef-methode bekend.

III

Het histochemisch onderzoek naar het enzympatroon bij verschillende tumoren kan bijdragen tot de classificatie van tumoren en hun metastasen.

IV

Bij elk onbekend gewrichtsproces is de kapselbiopsie een waardevol hulpmiddel, waarvan men de waarde echter niet mag overschatten.

V

Het nauwkeurig embryologisch onderzoek van het normale menselijk hart, draagt bij tot het inzicht in het tot stand komen van congenitale vitia cordis.

VI

Bij patienten met een adreno-genitaal syndroom door congenitale bijnierhyperplasie wordt een verhoogde uitscheiding van aldosteron in de urine gevonden, mits er geen zoutverlies syndroom bestaat. Dit moet als compensatie worden gezien.

Stellingen behorende bij J. Oort,
De Hypophysis Cerebri bij Larus Ridibundus
Leiden 1957

VOL COEDE COURAGIE
V C C